

Отзыв официального оппонента  
на диссертационную работу Федорченко Кристины Юрьевны  
«Метод неинвазивной диагностики рака легкого, основанный на анализе белкового и пептидного состава конденсата выдыхаемого воздуха человека», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Диссертационная работа Федорченко Кристины Юрьевны посвящена остро актуальной проблеме разработки метода ранней дифференциальной диагностики рака легкого. Остроту проблемы отражает широко известная информация: Международное агентство по изучению рака, ежегодно регистрируется около 1 миллиона новых случаев рака лёгкого, при 60-процентной смертности онкологических больных в результате данного заболевания. Рак легких в настоящее время является самой частой причиной смерти от злокачественных новообразований. Национальный институт здоровья США свидетельствует о том, что раком легких заболевают почти 70% пациентов в возрасте старше 65 лет и количество смертельных исходов от рака легких превысило смертность от рака молочной железы у женщин. В нашей стране рак лёгкого занимает первое место среди онкологических заболеваний и его доля в данной патологии составляет 15 % случаев среди умерших онкобольных. По уже устаревшим данным 2000 года рак лёгкого стал причиной смерти 32% мужчин, и 7,2 % женщин, у которых были обнаружены какие-либо злокачественные новообразования.

Основной причиной такой высокой смертности от рака легких является позднее выявление заболевания. Курабельные и операбельные формы рака легких в 1 и 2 стадиях заболевания пропускаются. При более поздней постановке диагноза в метастазирующих стадиях медицинская помощь оказывается, как правило, бессильной.

Такая ситуация сложилась в силу множества объективных причин, не позволяющих дифференцировать рак легких от других заболеваний легких. Среди заболеваний, маскирующих развитие рака легких, на первом месте хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), которой поражено в нашей стране более 15.3% населения (> 21 млн. человек) по А.И. Chuchalin et al., [2014]. Такова же частота встречаемости другого маскирующего рак легких заболевания - воспаления легких, которому подвержены люди всех возрастов. В год диагноз пневмония ставится более,

чем у 17 млн. человек, особенно часто у детей и пожилых людей в возрасте старше 65 лет. При пневмонии смертность также достаточно высока: более 8 % среди мужчин и 9 % у женщин. Однако, в отличие от рака легких, лекарственная терапия пневмонии хорошо разработана.

Нельзя не отметить, что дифференциальная диагностика рака легких осложняется тем, что ни клиническая симптоматика, ни широко применяемые к клинической практике и самые высокотехнологичные методы объективной диагностики, в том числе с использованием известных раковых биомаркеров, не позволяют с требуемой степенью надежности выделить среди указанных заболеваний контингент больных с подозрением на рак легких. Сочетанное определение нескольких, считающихся на сегодняшний день наиболее специфичными маркерных антигенов может в лучшем случае обеспечить сколько-то удовлетворительную диагностику не более, чем у 59% больных раком легких.

Изложенное дает представление о несомненной высокой актуальности рецензируемого исследования К.Ю. Федорченко по созданию метода, позволяющего осуществлять раннюю неинвазивную и надежную дифференциальную диагностику рака легких и приблизиться к скринингу больших массивов больных с легочной патологией. Автор исследования вполне обоснованно полагает, что наиболее перспективный подход к построению нового вида скрининговой дифференциальной диагностики заложен в методической базе современной протеомики. Соответственно цель работы была определена как разработка нового метода неинвазивной ранней диагностики рака легкого посредством анализа белкового и пептидного состава конденсата выдыхаемого воздуха человека с использованием масс-спектрометрии ультравысокого разрешения.

Для достижения поставленной цели были сформированы адекватные задачи исследования по отработке оптимальной методики подготовки проб конденсата выдыхаемого воздуха к масс-спектрометрическому анализу; анализ белкового и пептидного состава проб конденсата для контрольной группы, больных раком легкого, ХОБЛ, пневмонией; проведение их системного анализа с учетом данных по биохимии белков, анамнезу пациентов и клинической картины заболевания. Ключевой задачей стало определение пептидного состава конденсатов выдыхаемого воздуха больных раком легкого, ХОБЛ, пневмонией и их системный анализ в сопоставлении с

полученными данными по белкам. И наконец, завершающая задача заключалась в разработке диагностической модели по данным выполненного анализа, которая позволяла бы выявлять рак легкого на фоне других наиболее часто встречающихся респираторных заболеваний.

Сразу отмечу, что поставленные задачи решены полностью и выдвинутая автором цель успешно достигнута.

Диссертационная работа построена достаточно стандартно с модификациями, которые в необходимой мере обеспечивают полноценное представление полученного материала.

В литературном обзоре описаны подходы к диагностике состояния респираторной системы человека применительно к социально значимым заболеваниям. Проблемы ранней диагностики заболеваний органов дыхания представлены с глубоким погружением в, казалось бы, инородную область науки – медицинские проблемы диагностики заболеваний легких - с критическим анализом обширного опубликованного материала. Обе главы обзора настолько профессионально выполнены, что могут служить пособием для специалистов медицинского профиля.

Конечно, можно было бы посетовать на то, что на фоне скрупулезного и достаточно полноценного анализа каждого из диагностических методов описание существа показателей газов крови выглядит чрезмерно лаконичным. Впрочем, это может быть оправдано малой специфичности сдвигов в показателях газов крови при различных респираторных заболеваниях. Для полноты картины можно было упомянуть применяемую в последние десятилетия позитронно-эмиссионную томографию как метод выявления практически всех видов новообразований. Хотя ввиду чрезвычайно высокой дороговизны и скудной аппаратной оснащенности клинических учреждений едва ли этот метод в настоящее время может претендовать на место в скрининговой диагностике.

Мне хотелось также увидеть в обзоре упоминание возможностей современных методов протеомики, в частности, используемых автором работы и другими исследователями. Тем более, что, по вполне справедливому мнению диссертантки, после 2013 года в области протеомной диагностики заболеваний легких наблюдался ощутимый застой, который именно автор диссертации с успехом преодолела.

Содержание экспериментальной части работы свидетельствует как о широкой эрудиции автора и добротному освоению описываемых физико-химических методов протеомики, так и об ювелирном творческом владении самыми современными способами анализа и биоинформационной обработки получаемых данных

Лучшая и самая впечатляющая часть работы «Результаты и обсуждение». Она написана настолько ясно, логично, с глубоким знанием материала, что практически в комментариях не нуждается. Вчитываясь в текст, видишь какие не только научные, аналитические проблемы пришлось преодолеть диссертантке, но и организационные. На собственном опыте знаю, как сложно проводить такого рода комплексные исследования на клинических базах.. И дело не только в огромном для такого сложного исследования контингенте обследованных добровольцев (108 человек), но еще и в том, что работать с медицинскими учреждениями, подвигать на новые методические подходы, можно только при обладании большим упорством и терпением. Иначе невозможно получить систематизируемую информацию и по-настоящему привлечь врачей к исследованиям. Замечу, что при этом автором вместе с клиническими партнерами соблюдены все современные требования биоэтики и стандарты GCP.

Полагаю, что ясное и логичное представление результатов и их обсуждения намного выше уровня требований, которые можно предъявить в кандидатским диссертациям. Не вижу большого смысла перечислять вслед за автором этапы огромного пути и упоминать все препятствия, которые она преодолела. Достаточно сказать, что анализ пептидов и соответствующих им белков выполнены на самом современном физико-химическом и биоинформационном уровне. Этот анализ позволил четко описать, как следует выполнять проводить забор и пробоподготовку биологического материала адекватно требованиям ВЭЖХ и танлемной масспектрскопии, обозначить алгоритм и последовательность действий для получения почти 55 000 пептидов и их аналитического исследования. С помощью современных биоинформационных подходов автор смогла пройти процедуру «обратного» возврата от пептидов к белкам. В результате представлен массив данных, по которым созданы белковые профили пересекающихся множеств и выделены высоко селективные зоны, необходимые для построения и выполнения дифференциальных скрининговых и прецизионная диагностических исследований. На фоне застоя в протеомной

диагностике заболеваний респираторной системы последних лет трудно было надеяться на столь прорывной успех. Знания, умение и творческий подход позволили диссертантке получить с помощью протеомного физико-химического, биоинформационного и модельного анализа результаты, которые с высокой степенью достоверности позволяют выделять и диагностировать сложно различаемые в современных клиничко-аналитических условиях такие нозологии респираторной патологии, как рак легких, ХОБЛ и широкий класс пневмоний.

Основные полученные результаты - информация о сравнительном белковом и пептидном составе конденсата выдыхаемого воздуха больных раком легкого, пациентов с ХОБЛ и пневмониями, безусловно, являются абсолютно новыми. Автором экспериментально показано, что «анализ выдыхаемого воздуха – идеальный кандидат для скрининговых программ», открывающий, в сочетании с биоинформационными подходами, новые возможности в области персонализированной медицинской диагностики. Поскольку в проведенном исследовании предложена панель белковых биомаркеров для диагностики начальных стадий рака легкого и создана аналитическая модель прогнозирования наличия рака легкого по данным пептидного состава анализируемого конденсата выдыхаемого воздуха, считаю, что практическую и теоретическую значимость рецензируемой работы трудно переоценить.

Вполне очевидно, что в существующих клиничко-аналитических и материально-финансовых условиях использование высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией, не может быть реализовано в медицинской практике. Возможно, этого и не следует делать. Выделенные автором 19 характеристичных белковых биомаркеров рака легкого вполне приемлемы для создания диагностических ультрачувствительных чипов. Такого рода российские ультрачувствительные чипы позволяют надежно определять десятые доли фемтограммов белков. Это дает, на мой взгляд, реальную физическую основу для создания диагностических чипов за счет использования базовой совершенно новой информации, полученной и представленной К.Ю. Федорченко. Это информации явно недоставало для организации достоверной неинвазивной дифференциальной прецизионной диагностики и скрининга наиболее часто встречаемых таких социально значимых заболеваний, как рак легкого, ХОБЛ и пневмонии. Безусловно, впереди

большая работа, но диссертантка совершили прорыв: получены новые знания, создан алгоритм исследования, открыт путь и реальная перспектива для практики и дальнейших фундаментальных исследований в области диагностики не только респираторных заболеваний.

В заключение укажу на полное соответствие рецензируемой работы индикативным признакам квалификационных диссертационных работ. Содержание работы в полной мере соответствует названию и специальности «биофизика». Автореферат лаконично и полно отражает содержание диссертации. Завершенное решение поставленных задач открывает новые области исследований. Представленное диссертационное исследование по своей актуальности, научной новизне и буквально прорывной практической значимости соответствует требованиям п.9 "Положения...", утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, а его автор Федорченко Кристина Юрьевна, безусловно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.02 – биофизика.

На мой взгляд, уровень выполненного исследования существенно превышает требования к кандидатским работам.

Заведующий лабораторией энергетики биологических систем,  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук,  
профессор доктор медицинских наук  
член диссертационного совета ИТЭБ РАН Д 002.093.01 по специальностям «биофизика» (биологические и физико-математические науки) и «физиология»; также член диссертационного совета ИБК РАН Д 002.038.01 по специальности «биофизика», «молекулярная биология» и «биохимия».

Маевский Евгений Ильич



Подпись:

УДОСТОВЕРЯЮ ВЕД. ДОКУМ.  
Е. П. ГРУЗДЕВА

06.09.18.