

## ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе 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.

Протеомика, сформировавшаяся в конце 20-го века как особая научная дисциплина, которая занимается системным изучением белков в различных организмах, включая человека, с началом 21 –го века получила широкое и даже бурное развитие. Достаточно отметить, что по материалам, имеющимся в базе данных PubMed NCBI, за первые 5 лет 21-го века количество протеомных публикаций составляло около 2 тыс. в год, а во второй декаде 21-го века за период 2013-2017 гг. этот показатель достиг величины в 8 тыс. в год. (Т.е. более 20 публикаций ежедневно).

Значительное место в этом вале работ занимают исследования, направленные на решение многих биомедицинских проблем, и результаты этих исследований уже приходят в клинику. При этом одно из наиболее актуальных направлений в современной протеомике составляют работы, которые сориентированы на изучение протеомных профилей в клетках злокачественных опухолей и в биологических жидкостях онкобольных. Естественно, что подобные работы нацелены на поиски потенциальных диагностически значимых биомаркеров или мишеней для создания методов таргетной терапии.

Известно также, что в структуре онкологических заболеваний в России и многих странах Запада уже ряд лет первое место принадлежит раку легкого и других органов дыхательной системы.

Соответственно, тема диссертационной работы К.Ю. Федорченко, посвященная созданию метода неинвазивной диагностики рака легкого, основанный на анализе белкового и пептидного состава конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ), представляется весьма актуальной и важной для решения ряда вопросов, относящихся к общей протеомике человека, более того, она имеет реальные перспективы для клинического применения.

Для достижения поставленной цели, которая была сформулирована практически в самом названии рассматриваемой работы, К.Ю. Федорченко последовательно решала ряд достаточно сложных и взаимосвязанных задач.

Во-первых, она успешно разработала эффективную методику для подготовки проб КВВ к масс-спектрометрическому анализу и с ее помощью собрала соответствующие биоматериалы от 32 здоровых добровольцев, 17 больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), 13 – внебольничной пневмонией и 46 больных с диагностированным раком легкого. Таким образом, была решена весьма непростая задача по сбору биоматериалов от более чем 100 предварительно обследованных человек и сформированы репрезентативные группы для дальнейшей работы. Особо хотелось бы подчеркнуть, что среди всех предоставивших свои биоматериалы них почти половину составили лица с указанным онкозаболеванием.

Во-вторых, с помощью современных протеомных технологий диссертант последовательно решила задачи изучения спектров белков и пептидов в пробах КВВ, полученных от здоровых доноров, от пациентов с раком легкого, а также от больных ХОБЛ и внебольничной пневмонией. При этом автор осуществляла идентификацию белков и пептидов масс-спектрометрическими методами путем измерения такого биофизического показателя как отношение массы к заряду ( $m/z$ ). В результате К.Ю. Федорченко получила несколько групп новых и важных данных. Так, автору удалось идентифицировать 42 белка не кератиновой природы, которые присутствовали только в образцах КВВ пациентов с диагностированным раком легкого 1-2 стадии и не выявлялись в других обследованных группах. Дальнейший анализ с использованием аннотирования биоинформационных ресурсов, и с учетом частот встречаемости позволил определить наиболее перспективные потенциальные диагностические маркеры. Таких белков оказалось девятнадцать, и они были предложены в качестве диагностической панели, которая может стать основой нового неинвазивного метода диагностики рака легкого. Эти новые данные, несомненно, обладают высокой научно-практической значимостью.

Параллельно автор представила полученные сведения об особенностях белкового и пептидного состава КВВ у больных ХОБЛ, а также внебольничной пневмонией по сравнению с аналогичными данными у здоровых доноров.

В-третьих, по результатам исследований пептидного состава КВВ во всех изучавшихся группах (пациентов с легочной патологией и здоровых доноров) была построена линейная аналитическая модель прогнозирования наличия рака легкого у обследуемого лица. Предложенная модель показала хорошую прогностическую способность для определения КВВ раковых больных.

Наконец, следует отметить, что материалы диссертации К.Ю. Федорченко были широко представлены научному сообществу. Они обсуждались на различных научных конференциях, и нашли отражение в 25 печатных работах автора, из которых 8 были

опубликованы в рецензируемых журналах, входящих в список изданий, рекомендованных ВАК, и/или индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus.

Таким образом, очевидно, что перечисленные выше новые данные и ряд других материалов, имеющихся в рассматриваемой диссертации, свидетельствуют о ее существенной научно-практической ценности.

Диссертация К.Ю. Федорченко написана по традиционному плану. Она содержит следующие основные разделы – «Введение», две главы, представляющие собой обзор литературы (совместно 18 стр.), главу 3, содержащую описание материалов и использованных методов, шесть глав, в которых изложены полученные результаты и их обсуждение (суммарно 77 стр.). Завершают текст диссертации раздел названный «Основные результаты и выводы (2 стр.), список цитированной литературы из 328 отечественных и иностранных источников, а так же. Приложения, содержащие 8 таблиц. Рукопись хорошо иллюстрирована, в основном тексте имеются 35 рисунков и 21 таблица.

Текст диссертации начинается с раздела «Введение» (6 стр.), в котором автор, вполне обосновано, излагает материалы, свидетельствующие об актуальности избранной темы работы; далее следует описание целей и задач исследования, а также перечисление положений, характеризующихся новизной и материалы, отражающие научно-практическую значимость полученных результатов.

В главе 3 (10 стр.) автор кратко, но вполне убедительно охарактеризовала комплекс физико-химических методов, которые были использованы ею при проведении исследований. Среди этих методов представляется важным особо отметить тандемную хромато-масс-спектрометрию ультравысокого разрешения, MALDI-TOF-масс-спектрометрию и другие масс-спектрометрические методы. Кроме того, в этой главе представлены принципиально значимые для всей работы и детально описанные подходы и методы биоинформационного анализа результатов. В целом, приведенные в Главе 3 сведения дают основание считать, что К.Ю. Федорченко владеет необходимым набором экспериментальных методов исследований, соответствующим решавшимся задачам и специальности, по которой представлена рассматриваемая диссертация.

Далее подробно сведения об используемых биоинформационных технологиях и полученных решениях биоинформационных задач приведены в главе 4.

Затем в главах 5 и 6 диссертант представила результаты изучения белкового состава КВВ здоровых доноров. При этом параллельно были рассмотрены данные анализа белкового фона окружающего воздуха и ряд других сведений, которые важны для последующего сравнительного изучения КВВ лиц с легочной патологий.

Наиболее значимые результаты работы суммированы автором в главе 7, которая называется «Исследование белкового состава КВВ пациентов с ХОБЛ, пневмонией и раком легкого».

В заключительной главе 8 описано построение аналитических моделей, предназначенных для предсказаний существования фокусного заболевания у лица с определенными характеристиками КВВ.

Достоверность результатов, содержащихся в диссертационной работе К.Ю. Федорченко, и обоснованность сделанных выводов сомнений не вызывают, поскольку они получены на достаточно представительных выборках обследованных лиц современными и высоко эффективными методами. При этом автор наряду с биофизическими, биохимическими и молекулярно-биологическими методами использовала и методы биоинформатики, анализируя большие массивы данных (корреляционный анализ, кластерный анализ, метод логистической регрессии). Кроме того, достоверность результатов подтверждалась инструментальной и статистической оценкой погрешности измерений, а также согласованием полученных результатов с соответствующими литературными данными.

В целом, к результатам и выводам диссертации К.Ю. Федорченко существенных замечаний нет, однако при рассмотрении данной работы возникают некоторые вопросы для дискуссии и частные замечания.

Так обращает на себя внимание то, что диссертант неоднократно (стр. 10, 27, 28 и др.) использует термин протеом как практически соответствующий по содержанию полному белковому составу изучаемого биообъекта (например, раздел 2.5 даже называется «Протеом конденсата выдыхаемого воздуха в мультимодальных скрининговых программах»). Как следствие, вкладывая такое содержание в данный термин, обычно отмечают, что в отличие от генома протеом не постоянен во времени, меняется в зависимости от внешних факторов и отличается в разных типах биологического материала. Однако по содержанию такое применение данного термина существенно отличается от классического, выдвинутого в 1994 г. на конференции, которая состоялась в итальянском городе Сиена («2D-Electrophoresis: from Protein Maps to Genomes»), вскоре развитого в специальной монографии (Wilkins M.R., Williams K.L., Appel R.D., Hochstrasser D.F. «Proteomic research: new frontiers in functional genomics (principle and practice). Springer Verlag. Berlin. 1997. 464p.). В переводе на русский язык пионеры протеомных исследований определяли протеом как полный белковый комплемент (эквивалент) экспрессирующегося генома («PROTEOME: entire PROTEin complement expressed by the genOME»). Таким образом, протеом представлялся им как

полный список белковых продуктов генной экспрессии, которые может детерминировать геномом данного вида (и/или отдельной особи) и которые потенциально могут синтезироваться в разнообразных клетках соответствующих организмов и на разных стадиях онтогенеза. Иными словами, протеом подобно геному рассматривался как важнейшая видовая (и/или индивидуальная) характеристика.

В дискуссионном плане надо отметить, что диссертант совсем не одинока в своем подходе к использованию термина «протеом». Во многих зарубежных и отечественных публикациях этим термином по каким-то причинам просто заменяют другие (белковый состав, системный анализ белков или протеомный профиль), которые также широко используются, но являются с моей точки зрения более адекватными. Во-вторых, автор естественно вправе давать и свою трактовку того или иного термина, но следовало хотя бы упомянуть о существовании альтернативной точки зрения.

Последнее, по всей видимости, связано отчасти с несколько узким рассмотрением литературных материалов, которые представлены в двух главах литературного обзора. Например, в главе 2, которая называется «Конденсат выдыхаемого воздуха человека: перспективы и проблемы для разработки метода ранней диагностики патологических изменений состояния организма» протеомным технологиям посвящено менее одной страницы. Однако надо отметить, что этот недостаток компенсирован путем достаточно подробного обсуждения собственных результатов.


Наконец, рукопись и текст автореферата несвободны от некоторых редакционных недостатков и опечаток. В частности, название заключительного раздела работы представляется несколько избыточным («Основные результаты работы и выводы»). Фактически там содержится только констатация ранее сделанного и убедительно доказанного заключения о том, что «анализ КВВ представляется перспективным неинвазивным методом диагностики состояния респираторного тракта человека...» и перечисляются сделанные выводы. Кроме того, по моему мнению, по главам 1 и 2, содержащим анализ литературных материалов, было бы полезным сделать общее заключение. Обращает на себя внимание также то, что названия многих белков в тексте даются в русском переводе, а в ряде таблиц (например, 12, 13 и др.) – на английском языке.

В целом, очевидно, что отмеченные недостатки, замечания и пожелания носят дискуссионный или редакционный характер, не затрагивают основного содержания работы и никак не влияют на общую высокую оценку диссертации.

В общем заключении представляется необходимыми отметить следующее. Рассмотренная диссертационная работа Федорченко Кристины Юрьевны «Метод

неинвазивной диагностики рака легкого, основанный на анализе белкового и пептидного состава конденсата выдыхаемого воздуха человека» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему современными методами исследований. По своему содержанию она полностью соответствует требованиям, изложенным в п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного действующим Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. №650). Соответственно, ее автор К.Ю. Федорченко заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией биомедицинских исследований Федерального государственного учреждения Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук,  
доктор биологических наук, профессор  Шишкин Сергей Сергеевич

Подпись Шишкина Сергея Сергеевича заверяю

Ученый секретарь Федерального государственного учреждения Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук,

кандидат биологических наук

 Орловский Александр Федорович



Федеральное государственное учреждение Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук,

119071 Российская Федерация, г. Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2

Тел.: +7 (495) 954-52-83

Электронный адрес официального оппонента: [shishkin@inbi.ras.ru](mailto:shishkin@inbi.ras.ru)

«5» *февраля* 2018 г.