

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.039.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М.  
ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 21.02.2018 г., протокол № 2

О присуждении Федорченко Кристине Юрьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

**Диссертация** «Метод неинвазивной диагностики рака легкого, основанный на анализе белкового и пептидного состава конденсата выдыхаемого воздуха человека» по специальности 03.01.02 – биофизика принята к защите 13 декабря 2017 года, протокол № 13, диссертационным советом Д 002.039.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4; приказ Министерства образования и науки 105/нк от 11 апреля 2012 года.

**Соискатель** – Федорченко Кристина Юрьевна, 1985 года рождения, в 2007 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по специальности «микробиология». С 11 октября 2007 года до 12 октября 2015 года обучалась в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по специальности 03.01.02 – биофизика. В настоящее время работает в должности ассистента Международного биотехнологического центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» и, по совместительству, научным сотрудником Федерального

государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**Диссертация выполнена** в лаборатории кинетики и механизмов ферментативных и каталитических реакций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**Научный руководитель** – доктор химических наук, профессор, член-корреспондент РАН **Варфоломеев Сергей Дмитриевич**, заведующий лабораторией кинетики и механизмов ферментативных и каталитических реакций, научный руководитель Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

**Официальные оппоненты:**

**Шишкин Сергей Сергеевич**, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией биомедицинских исследований Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН);

**Маевский Евгений Ильич**, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по науке, заведующий лабораторией энергетики биологических систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук

**дали положительные отзывы на диссертацию.**

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ФГБУН Института биоорганической химии РАН) (г. Москва) в своем положительном заключении, составленном и подписанном доктором биологических наук, профессором Патрушевым Львом Ивановичем, ведущим научным сотрудником лаборатории биотехнологии; доктором химических наук

Ямпольским Ильей Викторовичем, заместителем директора по научной работе Института; доктором химических наук, профессором, академиком РАН Ивановым Вадимом Тихоновичем, руководителем отдела пептидно-белковых технологий и утвержденном ВРИО директора Института, доктором химических наук, профессором, академиком РАН Габибовым Александром Габибовичем, указывает, что диссертация, несомненно, является высокоактуальной, поскольку направлена на создание эффективного неинвазивного метода дифференциальной диагностики респираторных заболеваний на основе протеомного анализа конденсата выдыхаемого воздуха человека. Респираторные заболевания, включая рак легкого и хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ), являются одними из ведущих причин смерти среди населения в мире и Российской Федерации. Правильный диагноз рака легкого на ранних стадиях и выбор адекватного лечения значительно повышает шансы больных на выздоровление.

В отзыве подчеркнута, что в результате проведенной работы автору удалось получить новые фундаментальные данные относительно протеома конденсата выдыхаемого воздуха пациентов с респираторными заболеваниями, весьма перспективные для внедрения в клиническую практику, а сама диссертация прекрасно оформлена и написана хорошим литературным языком, сделанные выводы хорошо аргументированы и не вызывают сомнений в достоверности.

В заключение отмечается, что диссертационная работа К. Ю. Федорченко представляет собой законченную научно-квалификационную работу и удовлетворяет требованиям, установленным пунктами 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, с изменениями Постановления Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 года, в редакции Постановления Правительства РФ № 748 от 02 августа 2016 года, а ее автор, Федорченко К. Ю., заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Соискатель имеет 25 опубликованных работ, все по теме диссертации, из них 8 статей, опубликованных в рецензируемых российских и международных

научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ и включенных в базы цитирования Web of Science, SCOPUS и РИНЦ, 2 главы в монографиях и тезисы 15 докладов на российских и международных конференциях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Kurova, V. S. Proteomics of exhaled breath: methodological nuances and pitfalls / V. S. Kurova, E. C. Anaev, A. S. Kononikhin, K. Y. Fedorchenko, I. A. Popov, T. L. Kalupov, D. O. Bratanov, E. N. Nikolaev, S. D. Varfolomeev // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. — 2009. — Vol. 47, no. 6. — P. 706–712.
2. Федорченко, К. Ю. Ранняя диагностика рака легкого на основе анализа протеома конденсата выдыхаемого воздуха / К. Ю. Федорченко, А. М. Рябоконт, А. С. Кононихин, С. И. Митрофанов, В. В. Бармин, О. В. Пикин, Э. Х. Анаев, И. В. Гачок, И. А. Попов, Е. Н. Николаев, А. Г. Чучалин, С. Д. Варфоломеев // *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия*. — 2016. — № 2. — С. 112–120.
3. Анаев, Э. Х. Диагностика заболеваний легких на основе протеомного анализа конденсата выдыхаемого воздуха / Э. Х. Анаев, К. Ю. Федорченко, М. Э. Кушаева, А. М. Рябоконт, А. С. Кононихин, В. В. Бармин, О. В. Пикин, И. А. Попов, Е. Н. Николаев, С. Д. Варфоломеев, А. Г. Чучалин // *Пульмонология*. — 2017. — Т. 27, № 2. — С. 187–197.

На автореферат поступило **5 положительных отзывов**: **1)** отзыв д.ф.-м.н. профессора **Пантелеева Михаила Александровича**, ВРИО директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук, заведующего лабораторией молекулярных механизмов гемостаза, без замечаний; **2)** отзыв д.м.н. **Барановой Ирины Александровны**, профессора кафедры госпитальной терапии педиатрического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.

Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, содержит замечание о необходимости подтверждения полученного результата на статистически значимой однородной выборке пациентов для применения созданного метода на практике; 3) отзыв к.ф.-м.н. **Башкирова Павла Викторовича**, и.о. заведующего лабораторией электрофизиологии Федерального государственного бюджетного учреждения Федерального научно-клинического центра Федерального медико-биологического агентства России, содержит замечание по оформлению рисунков и подписей осей; 4) отзыв д.х.н. профессора **Дзантиева Бориса Борисовича**, заведующего лабораторией иммунобиохимии Федерального государственного учреждения Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, без замечаний; 5) отзыв д.б.н. **Синауридзе Елены Ивановны**, ведущего научного сотрудника лаборатории биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, содержит замечания по технической стороне оформления автореферата.

В отзывах отмечено, что тема диссертации является крайне актуальной, в работе проведено комплексное исследование белковых и пептидных компонентов в выдыхаемом воздухе для целей онкодиагностики. Автор оправданно использовал масс-спектрометрию высокого разрешения, а также комбинацию экспериментальных и вычислительных методов биохимии и биоинформатики, обосновал и обсудил полученные результаты. Результаты и выводы работы соответствуют поставленным задачам, достоверны и не вызывают сомнений. В качестве достоинств работы отмечены системный подход в исследовании и очень высокий теоретический и экспериментальный уровень.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации** обосновывается их специализацией по проблеме настоящей диссертационной работы и достижениями в области биофизики и биохимии белков, разработки методов

диагностики заболеваний на их основе, а также наличием публикаций в соответствующей сфере исследования и способностью оценить научную и практическую значимость диссертации. Оппонент – д.м.н., профессор Маевский Евгений Ильич является ведущим специалистом в области экстремальных состояний организма и изменений, происходящих на белковом уровне при возрастных и патологических изменениях организма человека. Оппонент – д.б.н., профессор Шишкин Сергей Сергеевич является ведущим специалистом в области протеомики и протеомной идентификации биомаркеров различных заболеваний, в том числе онкологии, в биологических жидкостях. Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук является ведущим научно-исследовательским институтом в области биохимии, биофизики и молекулярной биомедицины.

**Диссертационный совет отмечает,** что на основании выполненных соискателем исследований:

**разработана** новая экспериментальная методика, позволяющая на основании анализа конденсата выдыхаемого воздуха неинвазивно диагностировать у пациента рак легкого на фоне других респираторных заболеваний;

**предложены** оригинальные научные суждения, позволяющие определять наиболее перспективные потенциальные биомаркеры: выявлено 19 белков, которые могут быть использованы в качестве диагностической панели в основе создания нового неинвазивного метода ранней диагностики рака легкого;

**доказана** перспективность использования тандемной хромато-масс-спектрометрии ультравысокого разрешения в сочетании с биоинформационными методами анализа больших массивов данных хроматограмм триптических пептидов для диагностики заболеваний респираторной системы по конденсату выдыхаемого воздуха человека.

**Теоретическая значимость** исследования обоснована тем, что:

**доказаны** положения о влиянии основного заболевания пациента на протеомный профиль конденсата выдыхаемого воздуха;

**применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован** комплекс современных методов исследования белков и пептидов, таких как одномерный и двумерный электрофорез в ПААГ, триптический гидролиз белков, тандемная хромато-масс-спектрометрия ультравысокого разрешения, MALDI-TOF-масс-спектрометрия. Достоверность результатов обеспечивалась инструментальной и статистической оценкой погрешности измерений, согласованием полученных результатов с литературными данными, а также согласованием данных, полученных различными методами исследования;

**изложены** экспериментальные данные, свидетельствующие о взаимосвязи результатов анализа протеомных профилей конденсата выдыхаемого воздуха и клинической картиной рассматриваемых заболеваний, позволяющие идентифицировать заболевания даже в случае сочетания нескольких диагнозов; установлена связь между протеомным профилем конденсата выдыхаемого воздуха и анамнезом пациента, в дополнение к связи с основным заболеванием.

**раскрыты** причины низкой результативности использования иммуноферментных методов, электрофореза и специализированных программ для обработки данных с хромато-масс-спектрометра для проб конденсата выдыхаемого воздуха, что позволило оптимизировать анализ данного вида биоматериала, по сравнению с ранее распространенными подходами;

**изучены** масс-спектры белков конденсата выдыхаемого воздуха, что позволило получить новые данные о составе данного вида биоматериала, а также оптимизировать дальнейший анализ с помощью специализированного программного обеспечения и представить рекомендации для биоинформационной обработки представленных данных.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики** подтверждается тем, что:

**разработаны** методики анализа конденсата выдыхаемого воздуха в рамках протеомных исследований и рекомендации по пробоподготовке конденсата выдыхаемого воздуха, позволяющие минимизировать потери аминокислотных последовательностей и способствующие получению воспроизводимых результатов; разработана аналитическая модель определения наличия у донора рака легкого;

**определены** перспективы практического использования разработанного метода для неинвазивной диагностики рака легкого в условиях клинического обследования населения и диспансерного наблюдения;

**представлены** массивы данных, по которым созданы белковые профили пересекающихся множеств и выделены высоко селективные зоны, необходимые для построения и выполнения дифференциальных скрининговых и прецизионных диагностических исследований.

**Оценка достоверности** результатов исследования выявила:

**для экспериментальных работ** результаты получены на сертифицированном оборудовании с применением современных биофизических, биохимических и биоинформационных методов исследования, стандартных методик обработки результатов; показана воспроизводимость результатов исследования при различных постановках эксперимента; научные положения, выводы и результаты, сформулированные в диссертации, полностью обоснованы экспериментальными данными, достоверны и получили признание в научной литературе и на различных конференциях;

**теория** построена на известных из литературы данных о биомаркерах рассмотренных заболеваний и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

**идея базируется** на обобщении передового опыта использования конденсата выдыхаемого воздуха в диагностических целях и на анализе практики поиска белковых биомаркеров при протеомном исследовании;

**использованы** авторские данные и данные, полученные и опубликованные другими исследователями, по рассматриваемой тематике;



**установлено** качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по белковому составу конденсата выдыхаемого воздуха человека;

**использованы** современные методики сбора и обработки исходной информации, в том числе биоинформационные методы работы с большими массивами данных, математические методы компьютерного анализа (а именно, корреляционный анализ, кластерный анализ, метод логистической регрессии).

**Личный вклад** соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы, в том числе в анализе данных литературы, сборе проб, планировании и проведении научных экспериментов, обработке и интерпретации экспериментальных данных, полученных лично автором, а также данных, полученных при участии автора, апробации результатов исследования на конференциях и семинарах, подготовке публикаций по выполненной работе.

**Диссертация** Федорченко К.Ю. «Метод неинвазивной диагностики рака легкого, основанный на анализе белкового и пептидного состава конденсата выдыхаемого воздуха человека» представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, удовлетворяющую всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в пунктах 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», в которой содержится решение актуальной задачи по разработке метода неинвазивной диагностики рака легкого, основанного на анализе белкового и пептидного состава конденсата выдыхаемого воздуха человека с использованием масс-спектрометрии ультра высокого разрешения, имеющей важное значение для развития биофизики и ряда смежных областей.

На заседании 21 февраля 2018 года диссертационный совет принял решение присудить Федорченко Кристине Юрьевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.02.01 – биофизика, участвовавших на заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 22, против присуждения ученой степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель  
диссертационного совета, д.х.н.



Трофимов А.В.

Ученый секретарь  
диссертационного совета, к.х.н.

Мазалецкая Л.И.

21 февраля 2018 г.