

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский
центр онкологии имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России),
член-корреспондент РАН, профессор
И.С. Стилиди


«12» февраля 2019 г.



ОТЗЫВ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина», в качестве ведущей организации по диссертации Колеговой Елены Сергеевны на тему «Белки клеточной подвижности и их регуляция в патогенезе и прогнозе метастазирования у больных немелкоклеточным раком легкого», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 – онкология, 14.03.03 – патологическая физиология.

Актуальность темы и связь с планами развития медицинской науки и здравоохранения

Актуальность темы диссертационной работы Е.С. Колеговой «Белки клеточной подвижности и их регуляция в патогенезе и прогнозе метастазирования у больных немелкоклеточным раком легкого» обусловлена неуклонным ростом заболеваемости и увеличением смертности больных раком легкого. Поиск новых молекулярных факторов прогноза клинического течения рака легкого является важной научной и практической задачей. Проблема определения исхода заболевания этой сложной категории больных не может быть решена без учета молекулярных показателей.

Метастазирование и инвазивный рост, являясь основной характеристикой злокачественных новообразований, не изучены в достаточной мере на молекулярном уровне. Большое влияние на процессы локомоции и адгезии оказывает β -катенин и актин-связывающие белки. В регуляции работы белков и контроле их нормального функционирования в клетке существует система контроля качества белков, включающая молекулярные шапероны и протеазы.

Многочисленные литературные данные подтверждают вовлеченность белков клеточной подвижности в патогенез злокачественных опухолей. Тем не менее, CAP1 является одним из малоизученных актин-связывающих белков при опухолевой прогрессии в общем и при немелкоклеточном раке легкого в частности. CAP1 осуществляет разборку нитей актина самостоятельно, а также в связи с белком кофилином, кроме того, имеются данные об его участии в клеточном сигналинге. Также в настоящее время не достаточно изучена возможная регуляция данных белков при метастазировании рака легкого. Исследований на клиническом материале, посвященных совместному изучению белков клеточной подвижности (CAP1, кофилина и фракций β -катенина) и функционирования системы контроля качества клеточного протеома (протесом, кальпаинов и HspB5) в литературе не представлено. Кроме того, актуальным представляется изучение особенностей функционирования перечисленных белков в зависимости от проводимой терапии и исхода заболевания. Их изучение важно для разработки чувствительных и специфичных маркеров, позволяющих прогнозировать течение рака легкого.

Все вышеперечисленное позволяет считать, что диссертационная работа Е.С. Колеговой посвящена решению актуальной задачи, а именно, изучению белков клеточной подвижности и их регуляции в патогенезе и прогнозе метастазирования у больных немелкоклеточным раком легкого.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций

В представленной работе впервые исследован уровень актин-связывающих белков CAP1, кофилина, их мРНК, содержание фракций β -катенина, показателей протеасомной, кальпаиновой систем, уровень HspB5 в опухолевой и неизменной ткани больных немелкоклеточного рака легкого. Выявлены изменения в изучаемых показателях при изменении критериев Т и N – важных клинических характеристик опухоли. Впервые изучаемые показатели оценены при проведении термохимиолучевой терапии и показано, что белки подвержены этому воздействию в лимфогенных метастазах: снижается содержание белков клеточной подвижности и увеличивается количество и активность представителей системы контроля качества белков клеточного протеома. Данные результаты могут послужить фундаментальной основой для разработки маркеров эффективности термохимиолучевой терапии.

Впервые показано, что при немелкоклеточном раке легкого деградация белка клеточной адгезии β -катенина и актин-связывающих белков CAP1 и кофилина связана с повышением активности протеасомной и кальпаиновой протеолитических систем. При этом повышение активности протеасом снижает общую выживаемость больных, а высокий уровень CAP1 является неблагоприятным фактором в отношении риска развития отдаленных метастазов.

Обоснованность методов и достоверность полученных результатов и положений диссертации

Диссертационная работа Е.С. Колеговой выполнена на высоком методологическом уровне и достаточном количестве клинического материала (60 больных с морфологически верифицированным диагнозом немелкоклеточный рак легкого (T₂₋₃N₀₋₂M₀)). Для изучения активности протеиназ применяли флуориметрический метод с использованием специфических ингибиторов. Содержание субъединиц тотального пула

протеасом, кофилина и фракций β -катенина оценивали с помощью метода Вестерн-блоттинг. Экспрессию мРНК актин-связывающих белков и кальпаинов 1 и 2 определяли с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени. Содержание белков CAP1 и HspB5 определяли с помощью иммуноферментного метода.

Для оценки взаимосвязи признаков использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена, методы линейной и логистической регрессии. Прогностическая значимость признаков в отношении 2-летней общей и безметастатической выживаемости оценена с использованием обобщенного критерия Гехана-Вилкоксона. Проверка значимости показателей в отношении безметастатической и общей выживаемости осуществлялась с помощью ROC-анализа. Полученные результаты, содержащиеся в диссертации, научно обоснованы и достоверны. Статистическая обработка результатов проведена автором с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics v.20.0. Выводы аргументированы, корректно сформулированы и вытекают непосредственно из фактического материала.

Материалы диссертации докладывали и обсуждались на научных региональных, всероссийских и международных съездах и конференциях. Результаты исследования опубликованы в 16 печатных работах, в том числе 5 статьях в изданиях, рекомендованных ВАК.

В автореферате отражено основное содержание работы.

Таким образом, научные положения и выводы, отраженные в диссертации Е.С. Колеговой, основаны на достаточном клиническом материале, корректных методах исследования, полученные данные обработаны с применением современных методов математического анализа, детально проанализированы.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты исследования могут быть использованы для прогноза течения заболевания у больных немелкоклеточным раком легкого после операции, что в свою очередь позволит корректировать тактику ведения больных злокачественными новообразованиями этой локализации.

В диссертационной работе показана возможность использования уровня аденилатциклаза-ассоциированного протеина САР1 и показателей химотрипсин- и каспазаподобной активностей протеасом в ткани первичной опухоли для прогноза риска развития отдаленных метастазов и неблагоприятного исхода у больных немелкоклеточным раком легкого после операции. Проведен ROC-анализ для оценки значимости предложенных маркеров: для химотрипсинподобной активности протеасом чувствительность была 80%, специфичность - 90%; для каспазаподобной активности протеасом чувствительность - 83%, специфичность - 88%; для САР1 чувствительность - 80%, специфичность - 96%.

Кроме того, теоретическую и практическую значимость проведенной работы определяют новые фундаментальные данные об изменении содержания белков клеточной подвижности и показателей протеолитических систем при прогрессии немелкоклеточного рака легкого. Полученные данные о связи между протеиназами и содержанием белков клеточной подвижности углубляют имеющиеся знания о регуляции процессов клеточного движения.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Разработанные критерии прогноза течения заболевания у больных немелкоклеточным раком легкого могут быть рекомендованы для практического применения в онкологических учреждениях.

По результатам проведенного исследования автором рекомендовано у больных немелкоклеточным раком легкого учитывать уровень САР1 и активность протеасом в ткани опухоли как дополнительные маркеры течения заболевания. Фактором высокого риска развития гематогенных метастазов у

больных немелкоклеточным раком легкого в послеоперационном периоде является высокий уровень САР1 (выше 759 пг/мл) в ткани опухоли. При формировании группы повышенного риска неблагоприятного исхода у больных немелкоклеточным раком легкого в течение двух лет после операции необходимо учитывать химотрипсин- и каспазаподобную активности протеасом в ткани опухоли. Значение химотрипсинподобной активности выше $48,8 \cdot 10^3$ Ед/мг белка и каспазаподобной активности протеасом выше $31,2 \cdot 10^3$ Ед/мг белка рекомендовано считать фактором в отношении развития неблагоприятного исхода.

Новые полученные данные могут использоваться при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедрах онкологии, а также биохимии и молекулярной биологии медицинских ВУЗов. Результаты диссертационной работы могут быть использованы в системе дополнительного профессионального образования онкологов.

Заключение


Кандидатская диссертация Е.С. Колеговой «Белки клеточной подвижности и их регуляция в патогенезе и прогнозе метастазирования у больных немелкоклеточным раком легкого», является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача роли белков клеточной подвижности в прогнозе метастазирования немелкоклеточного рака легких. Исследование имеет научно-практическое значение, выполнено на высоком методологическом уровне, достаточном клиническом материале.

По актуальности, объему и уровню проведенных исследований, значению полученных результатов, диссертационная работа полностью соответствует критериям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335 и от 02.08.2016 №748), предъявляемым к диссертациям на соискание

ученой степени кандидата медицинских наук, а автор работы, Е.С. Колегова, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 – онкология и 14.03.03 – патологическая физиология.

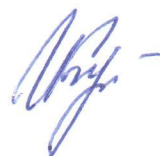
Диссертация Е.С. Колеговой «Белки клеточной подвижности и их регуляция в патогенезе и прогнозе метастазирования у больных немелкоклеточным раком легкого» обсуждена на научной конференции централизованного клинико-лабораторного отдела НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н.Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (протокол № 2 от «5» февраля 2019 г.).

Заведующий лабораторией клинической биохимии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, член-корреспондент РАН, профессор, доктор медицинских наук


Н.Е. Кушлинский

Подпись члена-корреспондента РАМН Н.Е. Кушлинского заверяю
Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»,
к.м.н.



 - И.Ю. Кубасова

Адрес: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24

Тел. 8 (499) 324-11-14, mail: kanc@ronc.ru