

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Колеговой Елены Сергеевны «Белки клеточной подвижности и их регуляция в патогенезе и прогнозе метастазирования у больных немелкоклеточным раком легкого», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.12 – онкология, 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность темы выполненной работы. Представленная кандидатская диссертация посвящена изучению роли белков клеточной подвижности и их регуляции в патогенезе и прогнозе метастазирования у больных немелкоклеточным раком легкого. Необходимо отметить, что рак легкого является одной из часто встречающихся злокачественных опухолей и относится к онкологическим заболеваниям с высокой летальностью. Характерной особенностью рака легкого является появление метастазов уже в первые три года, в том числе и у больных, обратившихся на ранней стадии заболевания. При этом молекулярные механизмы метастазирования немелкоклеточного рака легкого в достаточной мере не изучены. В связи с этим, в настоящее время активно исследуются белки, ответственные за клеточную подвижность. Считается, что опухолевая прогрессия, инвазия и метастазирование, во многом зависят от работы данных белков, в частности β -катенина и актин-связывающих белков. В настоящее время открыт вопрос о регуляции работы данных белков при злокачественных новообразованиях, в общем, и при немелкоклеточном раке легкого, в частности. Сохранность клеточного и системного протеома обеспечивается функционированием системы контроля качества белков, важную роль в которой играют протеиназы, осуществляющие быструю деградацию регуляторных, аномальных и поврежденных белков. В процессе опухолевого роста, когда функционирование клетки значительно изменяется и происходит качественное и количественное преобразование клеточного протеома,

протеиназы приобретают большее значение.

Таким образом, комплексное изучение функционирования белков CAP1, кофилина, фракций β -катенина, участвующих в инвазии и миграции опухолевых клеток, их возможных модуляторов (HspB5, протеасомной и кальпаиновой протеолитических систем) позволило бы выявить новые молекулярные механизмы регуляции процессов метастазирования немелкоклеточного рака легкого. Также актуальным в настоящее время представляется изучение особенностей функционирования перечисленных белков в зависимости от проводимой терапии и исхода заболевания, что может послужить основой для разработки новых маркеров, позволяющих прогнозировать течение рака легкого.

В связи с вышеизложенным, диссертационная работа Колеговой Е.С., посвященная изучению роли белков клеточной подвижности (CAP1, кофилина и фосфорилированной и общей форм β -катенина) и системы контроля качества клеточного протеома (протеасом, кальпаинов и HspB5) при немелкоклеточном раке легкого, имеет не только большое теоретическое, но и практическое значение, а актуальность темы работы не вызывает сомнения.

Общая методология и методики исследования. Работа выполнена на высоком методологическом уровне с использованием высокочувствительных подходов для определения содержания изучаемых белков, таких как Вестерн блоттинг и иммуноферментный метод, а также традиционных биохимических методов для оценки активности протеиназ. Кроме того, был проведен анализ экспрессии мРНК генов изучаемых белков методом количественной ПЦР в режиме реального времени. Методы, используемые в работе, адекватны цели и поставленным задачам исследования. Проведена оценка содержания белков клеточной подвижности, экспрессии их мРНК, а также компонентов системы контроля качества клеточного протеома в условно неизменной ткани, опухолевой ткани и лимфогенных метастазах при немелкоклеточном раке легкого.

Степень обоснованности и достоверности положений, выводов, рекомендаций. Научные положения и выводы, изложенные в диссертации, получены в результате анализа достаточно большого объема корректно собранного фактического материала. Данные проанализированы с использованием современных подходов математической статистики (программа IBM SPSS Statistics v.20.0). Задачи исследования и положения, выносимые на защиту, научно обоснованы, выводы логически вытекают из полученных результатов и являются непосредственным итогом проведенного автором исследования. Обоснованность полученных результатов подтверждается широким обсуждением на конференциях различного уровня и публикациями результатов в научных изданиях, в том числе и в журналах перечня ВАК. По теме диссертации опубликовано 16 работ, из них 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ. Содержание диссертации соответствует содержанию опубликованных работ.

Научная новизна. Основное внимание в работе Е.С. Колеговой уделяется изменению содержания белков клеточной подвижности, их мРНК и показателей системы контроля качества клеточного протеома, как регуляторов их работы, в тканях у больных немелкоклеточным раком легкого. Показано увеличение содержания белков клеточной подвижности, а также усиление протеасом- и кальпаин-зависимого протеолиза в опухоли по сравнению с неизменной тканью легкого. Впервые при немелкоклеточном раке легкого оцениваются молекулярные показатели в ткани первичной опухоли и лимфогенных метастазах при опухолевом росте и регионарном метастазировании. Впервые изучаемые показатели оценены при проведении термохимиолучевой терапии и при этом показано, что белки подвержены воздействию термохимиолучевой терапии в метастатически-измененных лимфоузлах: снижается уровень САР1 на фоне повышения экспрессии его мРНК; повышается общая фракция β -катенина при снижении его фосфорилированной формы; а также повышается активность протеасом и кальпаинов, уровень HspB5. Впервые в тканях немелкоклеточного рака

легкого выявлена связь между активностью внутриклеточных протеиназ и содержанием белков клеточной подвижности: показано возможное участие химотрипсинподобной активности в деградации β -катенина; каспазаподобной активности – САР1 и кофилина; активности кальпаинов – кофилина.

Значение выводов и рекомендаций, полученных в диссертации, для науки и практики. Полученные в работе результаты представляют несомненный интерес для современной фундаментальной науки и дополняют знания о роли белков клеточной подвижности и специфических внутриклеточных протеиназ в патогенезе опухолевого роста, а также расширяют имеющиеся представления о регуляции актин-связывающих белков и β -катенина. Практическая ценность работы не вызывает сомнения, так как разработаны новые критерии оценки риска неблагоприятного прогноза и гематогенного метастазирования при немелкоклеточном раке легкого. Высокая чувствительность и специфичность полученных маркеров говорит о возможности использования их в клинике.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 120 страницах, содержит 21 таблицу, 23 рисунка, состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Список цитируемой литературы включает 195 источников, из которых 30 отечественных и 165 зарубежных.

Во введении автор отражает актуальность проблемы, формулирует цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость представленной работы. Основные положения, выносимые на защиту, отражают полученные автором новые научные результаты. Цель исследования сформулирована четко, поставленные автором задачи корректны для ее достижения. В задачах исследования № 2, 3 и 4 следовало уточнить, какие ткани или какие злокачественные новообразования имеет в виду автор. Новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационной работы обоснованы.

Обзор литературы содержит сведения о патогенезе немелкоклеточного рака легкого, структуре и функциях белков клеточной подвижности, протеасом, кальпаинов и малом белке теплового шока HspB5; роли данных белков в развитии различных злокачественных новообразований и немелкоклеточного рака легкого в частности. Анализ литературы логично приводит к необходимости решения существующих вопросов.

В главе «Материалы и методы исследования» дана характеристика обследованных групп и экспериментального блока. Методы, используемые в работе, адекватны цели и поставленным задачам исследования. Результаты получены на достаточном количестве наблюдений. Методы статистической обработки корректны и позволяют выявить наиболее информативные показатели для прогноза течения немелкоклеточного рака легкого.

Результаты исследований и их обсуждение представлены в главе 3. В ходе проведенного исследования детально изучены экспрессия мРНК и содержание актин-связывающих белков, β -катенина, а также активность протеасом и их содержание, активность кальпаинов и экспрессия их мРНК в тканях немелкоклеточного рака легкого как в сравнении с условно-неизменной тканью легкого, так и в зависимости от клинικο-морфологических параметров немелкоклеточного рака легкого и вида проводимого лечения. Проведённый анализ выявил особенности изменения состояния белков клеточной подвижности и работы протеолитических систем при развитии онкологического процесса. Показано повышение уровня CAP1 и снижение содержания кофилина при росте экспрессии их мРНК, а также увеличение уровня фосфорилированной фракции β -катенина на фоне снижения содержания его общей фракции и снижение активности кальпаинов в ткани первичной опухоли и лимфогенных метастазов при увеличении размера первичной опухоли. Кроме того, в опухолевой ткани при лимфогенном метастазировании немелкоклеточного рака легкого выявлено повышение уровня CAP1 и его мРНК. Установлено нелинейное изменение уровня кофилина, его мРНК, фракций β -катенина и активности протеасом

при поражении регионарных лимфоузлов с уровня $T_{2-3}N_0M_0$ до $T_{2-3}N_2M_0$.

Проанализированы взаимосвязи между изменениями содержания белков, ассоциированных с клеточной подвижностью и активностью протеолитических систем. Исследование позволило предположить наличие протеолитической регуляции изучаемых белков протеасомами и кальпаинами, причем, сохраняющейся в опухолевой ткани первичного очага и лимфогенных метастазов. Таким образом, согласно научной концепции работы, инвазивные и метастатические свойства клеток немелкоклеточного рака легких могут быть связаны с изменением содержания белков клеточной подвижности, а их протеолитическая регуляция является одним из механизмов участия протеасом и кальпаинов в развитии рака легкого.

Белки клеточной подвижности и системы контроля качества клеточного протеома изучены автором при проведении термохимиолучевой терапии, при этом показано, что они изменяют свою активность и содержание только в ткани метастатических лимфоузлов. Получены закономерности, показывающие, что в ответ на проведение термохимиолучевой терапии в метастазах происходит снижение уровня $CAPI$ на фоне повышения экспрессии его мРНК; повышение общей фракции β -катенина при снижении его фосфорилированной формы, а также повышение активности протеасом, кальпаинов и уровня малого белка теплового шока $HspB5$.

Показано прогностическое значение ряда показателей. Так высокая химотрипсинподобная и каспазаподобная активность протеасом являются неблагоприятными факторами в отношении общей выживаемости, а высокий уровень $CAPI$ – неблагоприятным фактором в отношении безметастатической выживаемости.

Результаты работы отражены в 6 выводах, которые логически обоснованы, соответствуют поставленной цели и задачам. Содержание автореферата соответствует основному содержанию диссертационной работы.

Представленные практические рекомендации, основанные на

полученных результатах, принципиальных возражений не вызывают.

Результаты диссертационной работы Колеговой Е.С. могут быть рекомендованы для широкого круга специалистов: онкологов, патофизиологов, биохимиков, а также для преподавания соответствующих дисциплин в медицинских высших учебных заведениях.

Диссертация написана хорошим литературным языком. Автору имело бы смысл уменьшить количество сокращений в формулировках выводов.

Автореферат соответствует содержанию диссертации. Принципиальных замечаний по работе не имею.

В целом высоко оценивая работу, хотелось бы обсудить некоторые положения и задать вопросы:

1. Можно ли, на Ваш взгляд предположить, что выявленные закономерности и особенности протеолитической регуляции актин-связывающих белков при немелкоклеточном раке легкого будут отмечаться при злокачественных новообразованиях других локализаций?
2. Какими молекулярными механизмами, на Ваш взгляд, определяются взаимодействия между шаперонами и протеолитическими системами в опухолевых клетках при немелкоклеточном раке легкого?

Заключение: диссертация Е.С. Колеговой «Белки клеточной подвижности и их регуляция в патогенезе и прогнозе метастазирования у больных немелкоклеточным раком легкого», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальной научной задачи изучения молекулярного патогенеза и поиска новых маркеров развития немелкоклеточного рака легкого, что вносит существенный вклад в медицину и открывает новые перспективы научных исследований в онкологии и

патологической физиологии. Работа соответствует требованиям п. 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 наук по специальностям 14.01.12 – онкология и 14.03.03 – патологическая физиология. Диссертант, Колегова Елена Сергеевна, заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата медицинских наук.

Официальный оппонент

Профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии
с курсом клинической лабораторной диагностики
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук,
профессор



Елена Алексеевна Степовая

634050, г. Томск, Московский тракт, 2, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава
России,
телефон 8(3822)(901101)1853,
E-mail: muir@mail.ru

