

ОТЗЫВ

официального оппонента Красильникова Михаила Александровича на диссертационную работу Горбуновой Анны Сергеевны «Роль белков контроля качества митохондрий в прогрессировании аденокарциномы легкого», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – Биохимия

Актуальность избранной темы

Онкологические заболевания занимают второе место среди причин смертности населения во всем мире. Наиболее распространённой причиной онкологических смертей является рак лёгкого. Гистологическая классификация разделяет рак лёгкого на мелкоклеточный и немелкоклеточный, который, в свою очередь, подразделяется на плоскоклеточный, крупноклеточный и аденокарциному. Основной причиной рака лёгкого признаётся курение, однако самый распространённый тип – аденокарцинома лёгкого – в большей степени, чем другие виды связана с генетической предрасположенностью и воздействием внешних факторов окружающей среды.

Исследователями всего мира все большее внимание уделяется пониманию роли митохондрий и связанными с ними метаболическими путями в процессе развития и прогрессирования опухолевых заболеваний. Для должного функционирования клетке необходимо поддерживать популяцию митохондрий способных качественно выполнять возложенные на них функции. Контроль качества митохондрий достигается с помощью белков митофагии, дробления/слияния митохондрий и регуляторов окислительного стресса, а именно BNIP3, Drp1, PINK1, BNIP3l/NIX, Mfn2, Sirtuin3 и GPX4. Данные белки могут как помогать злокачественным клеткам приспосабливаться к неблагоприятным факторам микроокружения, в частности гипоксии, так и опосредованно регулировать митохондриальный тип апоптоза, направляя данные клетки на путь гибели. Следовательно, белки контроля качества митохондрий, модулируя адаптацию опухолевых клеток, в том числе в условиях недостатка кислорода, являются потенциально

важными регуляторами, участвующими в процессе канцерогенеза, и требует дополнительного исследования.

Раскрытие механизмов функционирования опухолевых клеток и детальный анализ роли митохондрий на примере аденокарциномы легкого является важной задачей в разработке новых и дополнению известных терапевтических стратегий онкологических заболеваний.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста, включает 9 таблиц и 19 рисунков. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, который содержит 207 источников, из которых 205 опубликованы в международных журналах.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основные положения, выносимые на защиту, являются хорошо обоснованными и подкрепляются 6 публикациями диссертанта в отечественных и международных рецензируемых научных изданиях. Кроме этого, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций подтверждается качественным анализом 207 литературных источников, из которых 205 международных. Использование современных методов биохимии, биоинформатический анализ, подбор антител для анализа тканей пациентов, осуществление экспериментов в нескольких повторах, их воспроизводимость, а также применение адекватных методов статистической обработки данных бесспорно свидетельствуют о высокой степени обоснованности сформулированных диссертантом научных положений, выводов и рекомендаций.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Научная новизна диссертационной работы обосновывается тем, что автором впервые выявлена роль белков контроля качества митохондрий в прогрессировании аденокарциномы легкого на российской выборке

пациентов с помощью анализа Вестерн блот, который не применяется в рутинной клинической диагностике онкологических заболеваний.

В ходе работы автором была осуществлена оценка уровня белков контроля качества митохондрий (BNIP3 (димерной и мономерной форм), Drp1, PINK1, BNIP3/NIX, Mfn2, Sirtuin3 и GPX4) в опухолевых и нормальных тканях у 80 пациентов с аденокарциномой легкого. Уровни димерной и мономерной форм BNIP3, а также GPX4 были повышены в опухолевых образцах по сравнению с нормальными тканями. Также было изучено влияние исследуемых белков и клиничко-патологических признаков, а именно TNM, дифференцировки, стадий, пола, возраста и первично-множественных злокачественных опухолей, на выживаемость 80 пациентов с аденокарциномой легкого. Изменение уровней димерной формы BNIP3, Sirtuin3 и Drp1 в опухоли по сравнению с нормальной тканью, а также возраст и стадии по отдельности и в совокупности влияли на выживаемость больных данной патологией. Полученные данные легли в основу номограммы, разработанной для предсказания 1-, 3- и 5-летней выживаемости пациентов с аденокарциномой легкого. Кроме этого, в рамках данной диссертационной работы была изучена роль белка митофагии – BNIP3. Установлено, что нокаут по BNIP3 вызывал появление популяции поврежденных митохондрий, более восприимчивых к апоптозу, индуцированному цисплатином. Полученные результаты были рассмотрены и проанализированы с использованием имеющихся литературных и биоинформатических данных.

Следовательно, полученные в рецензируемой диссертационной работе результаты позволят внести существенный вклад в усовершенствование подходов противоопухолевой терапии аденокарциномы легкого и несомненно обладают научной новизной, что подтверждается публикациями в 6 научных изданиях.

Достоверность диссертационной работы является бесспорной, что обосновывается достаточным объемом экспериментальных данных, а также

их статистической значимостью, рассчитанной с помощью программ GraphPad Prism и Rstudio.

Замечания

В экспериментах на клеточных линиях автор убедительно показывает, что протективный эффект белка BNIP3 ассоциирован с сохранением митохондрий и, в частности, предотвращением выброса цитохрома C в цитоплазму клеток. Однако, насколько протективный эффект BNIP3 ограничен именно действием на митохондрии - этот вопрос остается открытым. В связи с этим, автору можно рекомендовать в дальнейшем провести более широкое исследование механизма протективной активности BNIP3, включая влияние на основные (анти)апоптотические сигнальные пути клетки. И, безусловно, не ограничиваться только экспериментами с цисплатином, если говорить о протективном эффекте BNIP3, то его проявление может распространяться на чувствительность опухолевых клеток на самые различные проапоптотические воздействия, от препаратов-цитостатиков до облучения. И, безусловно, отдельный интерес представляло бы дальнейшее изучение клеточных культур с нокдауном BNIP3, в том числе возможность получения резистентных сублиний при длительном культивировании таких клеток с цисплатином и установление возможных механизмов, активируемых в обход заблокированного BNIP3.

Указанные замечания, скорее, являются рекомендациями на будущее и ни в коей мере не снижают значимости диссертации как современного высококвалифицированного инновационного исследования актуальной научной задачи.

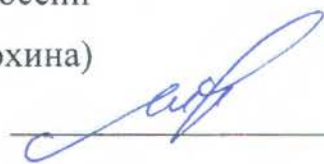
Заключение

Таким образом, диссертационная работа А.С. Горбуновой «Роль белков контроля качества митохондрий в прогрессировании аденокарциномы легкого», выполненная под руководством кандидата биологических наук Копеиной Гелины Сергеевны, является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной задачи биохимии – выявлению роли белков митофагии и дробления/слияния

митохондрий, а именно BNIP3, Drp1, PINK1, BNIP3L/NIX, Mfn2, Sirtuin3 и GPX4, в прогрессировании аденокарциномы легкого. По актуальности темы, методологическому подходу, объему выполненных диссертантом исследований, научной новизне полученных данных, их научно-практической значимости и опубликованным материалам, диссертационная работа Горбуновой Анны Сергеевны полностью отвечает требованиям на соискание ученой степени кандидата наук согласно п.9 положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., №650 от 29.05.2017г., №1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г., №426 от 20.03.2021 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – Биохимия.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук (14.01.12 Онкология),
профессор, директор Научно-исследовательского института
канцерогенеза Федерального государственного бюджетного
учреждения «Национальный медицинский исследовательский
центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России
(НИИ канцерогенеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина)
Красильников М.А.



Подпись заверяю:

Ученый секретарь НИИ канцерогенеза
НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина,
кандидат биологических наук
Гудкова М.В.



Адрес: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23

Телефон, e-mail: +79163030412, krasilnikovm1@yandex.ru

«17» ноября 2022 г.