

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора

Гуляевой Людмилы Федоровны

о научно-практической значимости диссертационной работы

Ковалева Олега Игоревича

на тему «Особенности экспрессии молекулярных шаперонов при серозных опухолях яичников: связь с клеточным и белковым составом асцитической жидкости», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.2.- патологическая анатомия и 1.5.4. – биохимия

Актуальность темы и связь ее с планами развития медицинской науки и здравоохранения

Рак яичника (РЯ) является гетерогенным заболеванием, объединяющим злокачественные опухоли с разнообразными гистологическими структурами и различным клеточным происхождением. РЯ является восьмым по распространенности видом рака у женщин, на долю которого, по разным оценкам, приходится до 4 % от всех случаев рака. Ежегодно в России регистрируется более 14 тыс. новых случаев РЯ. Этот вид рака характеризуется высокой смертностью, что связано со стертой клинической картиной заболевания, особенно на ранних стадиях, что приводит к высокому проценту диагностики уже запущенных форм болезни. В настоящее время при распространенном первичном раке яичников одними из частых признаков заболевания являются асцит и экссудативный плеврит. Онкомаркеры, индекс ROMA, применяемые для диагностики рака яичников, не обладают достаточной специфичностью и чувствительностью, кроме того, они также не являются однозначным методом диагностирования рака яичников. Всё это подчеркивает настоятельную потребность в получении новых данных о маркерах рака яичников. В связи с вышеизложенным актуальность диссертационной работы Ковалева Олега Игоревича, направленной на поиск новых маркеров РЯ с акцентом на белки теплового шока, не вызывает сомнений.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Многие результаты, полученные в диссертационном исследовании, получены впервые. Это утверждение подтверждается тем фактом, что роль молекулярных шаперонов, белков теплового шока (Hsp), таких как Hsp27 и Hsp90, в патогенезе РЯ остается малоизученной научной проблемой. Между тем, эти белки регулируют такие важные клеточные процессы, как апоптоз, миграция, ангиогенез, которые характерны для данного заболевания. В диссертационной работе Ковалева

О.И впервые проведён комплексный клинико-морфологический анализ экспрессии молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в опухолевом и стромальном компонентах при серозных карциномах и пограничных опухолях яичников с учётом степени злокачественности и распространённости опухолевого процесса. Впервые установлено, что уровень экспрессии Hsp27 достоверно превышает экспрессию Hsp90, как в опухолевых клетках, так и в клетках опухолевой стромы при серозном раке яичников, при этом экспрессия Hsp27 увеличивается по мере прогрессии заболевания, включая её ядерную локализацию, что отражает клинико-морфологические характеристики злокачественности опухоли. Автором впервые охарактеризован фенотипический состав опухолевых клеток в асцитической жидкости у пациенток с серозными и пограничными опухолями яичников, включая EpCAM-позитивные популяции с признаками стволовости, гибридного фенотипа (EpCAM⁺CD45⁺), а также с признаками эпителиально-мезенхимального перехода. Установлено, что указанные популяции достоверно преобладают при серозных карциномах по сравнению с пограничными опухолями. Впервые показано, что концентрация внеклеточного Hsp27 в асцитической жидкости у больных серозным раком яичников значительно превышает уровень данного маркера при пограничных опухолях. Этот показатель положительно ассоциирован с количеством опухолевых клеток с агрессивными и пластичными фенотипами, в том числе гибридных EpCAM⁺CD45⁺ и EpCAM⁺CD45⁻CD44⁻ клеток. Важно отметить, что Ковалевым О.И обоснована прогностическая значимость белка Hsp27 как маркера, отражающего клинико-морфологическую стадию опухолевого процесса и степень выраженности эпителиально-мезенхимальной трансформации опухолевых клеток. Показано, что экспрессия Hsp27 и его концентрация в асците являются взаимодополняющими характеристиками злокачественного фенотипа серозных опухолей яичников.

Достоверность и степень обоснованности научных положений, выводов и заключений

Достоверность полученных соискателем положений, выводов, а также практических рекомендаций и результатов основывается на использовании репрезентативной выборки пациентов, включавшей 58 пациенток с впервые выявленными новообразованиями яичников, а также выборкой биологического материала. Были использованы парафиновые блоки биопсийного и операционного материала: опухолевой ткани, асцитической жидкости и сыворотки крови. В работе применялись современные морфологические и молекулярно-биологические методы исследования. Для определения содержания белков Hsp27 и Hsp90 использовался иммуногистохимический метод и методы ИФА. Для определения количества различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости применялся метод проточной цитометрии. Состав опухолевых клеток в асците определялся методом многоцветной проточной цитометрии с визуализацией.

Научные положения, выносимые на защиту, обоснованы, аргументированы, дают исчерпывающее представление о содержании проведенной работы и полученных результатах. Практические рекомендации и выводы полностью соответствуют поставленной цели и задачам диссертационной работы. Все полученные результаты обработаны с использованием современных методов статистического анализа с использованием пакетов Microsoft Excel 2017, GraphPad Prism 10, StatTech и StatSoft STATISTICA v.7.0.61.0.

Основное содержание работы

Диссертационная работа Ковалева О.И. изложена на 186 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, пяти глав собственных исследований с обсуждением полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа иллюстрирована 38 рисунками и 7 таблицами. Список литературы содержит 290 источников, из которых 9 отечественных и 281 зарубежных.

Во введении автор обосновывает актуальность тематики проведенной работы, учитывая существующие на сегодня проблемы диагностики и лечения серозного рака яичников. Здесь приводится информация о степени разработанности темы, решаемой научной проблемы, четко формулируется цель и задачи для её решения, подчеркивается научная новизна исследования, а также обозначается теоретическая и практическая значимость проведенного исследования. Приводятся три положения, выносимые на защиту, которые полностью отражают результаты исследования.

В главе I «Обзор литературы» автор анализирует современные представления об эпидемиологии, классификации и молекулярных особенностях серозных опухолей яичников. Обзор литературы включает 5 подглав, в которых четко и подробно представлено современное состояние исследований по поиску маркеров РЯ с акцентом на белки теплового шока. Здесь приводятся характеристика, классификация, биохимические свойства и функции Hsp, включая Hsp27 и Hsp90 и их роль в патогенезе рака яичников. Проанализировав современную литературу, автор заключает, что Hsp27 и Hsp90, как компоненты опухолевого стресса и межклеточной сигнализации, представляют собой перспективные мишени для разработки диагностических и терапевтических подходов для РЯ.

Во II-й главе «Материал и методы исследования» представлена схема дизайна диссертационной работы с последовательностью этапов сбора материала и проведения анализов. Здесь четко прописаны клинично-морфологические характеристики пациенток, включенных в работу с описанием критериев, соответствующим планируемому исследованию. Детально описаны методики, с использованием которых были получены представленные результаты, а также применяемые подходы статистического анализа.

Глава III посвящена результатам собственных исследований и их обсуждению. В первом разделе данной главы исследованы особенности внутриклеточной локализации молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в стромальных и опухолевых клетках при

серозных карциномах и пограничных опухолях яичников. Далее Ковалев О.И. анализирует популяции опухолевых клеток (с признаком стволовости, с признаком эпителиально-мезенхимального перехода, атипичных/гибридных форм) в асцитической жидкости при серозных карциномах и пограничных опухолях яичников. В последующих главах он анализирует взаимосвязь клинико-морфологических параметров серозных карцином яичников с различными популяциями Ерсam-положительных опухолевых клеток и концентрацией Hsp27 в асцитической жидкости, а также закономерности презентации Hsp27 и Hsp90 в опухолевых и стромальных элементах при опухолевой прогрессии рака яичников.

В главе «Заключение» автор подводит итог проведенного исследования и дает краткую и четкую интерпретацию полученных результатов, справедливо указывая, что проведенное исследование показало высокую актуальность и практическую значимость анализа экспрессии молекулярных шаперонов при серозных опухолях яичников. Шесть выводов, сделанных диссертантом, обоснованы, отражают основные результаты исследования и полностью соответствуют поставленным задачам.

Рекомендации по использованию полученных результатов и выводов

Полученные в диссертационной работе Ковалева Олега Игоревича результаты могут быть использованы широким кругом специалистов: онкологами, биохимиками, патоморфологами, а также специалистами клинической лабораторной диагностики. В практической медицине возможно использование иммуногистохимического анализа белков Hsp27 и Hsp90 в опухолевом и стромальном компонентах серозных опухолей яичников как дополнительный морфологический критерий злокачественного потенциала. Определение внеклеточного Hsp27 в асцитической жидкости методом ИФА может служить дополнительным лабораторным маркером опухолевой агрессии. Анализ ЕрСАМ+ опухолевых клеток в асцитической жидкости, включая гибридные формы (ЕрСАМ+CD45+), стволовые (CD44+, CD133+) и EMT-ассоциированные клетки (N-cadherin+), целесообразен при комплексной оценке опухолевого микроокружения.

Значимость для медицинской науки и практики полученных автором диссертации результатов

Диссертационное исследование Ковалева Олега Игоревича на тему «Особенности экспрессии молекулярных шаперонов при серозных опухолях яичников: связь с клеточным и белковым составом асцитической жидкости», без сомнения, имеет высокую теоретическую и практическую значимость. Теоретически и экспериментально обоснована возможность использования таких дополнительных молекулярных маркеров серозного рака яичников, как белки теплового шока Hsp27 и Hsp90, для прогноза и выбора тактики терапии.

Публикации

По результатам диссертационной работы Ковалева О.И. опубликовано 9 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и

высшего образования Российской Федерации для опубликования основных научных результатов кандидатских и докторских диссертаций, из них 2 статьи – в журналах категории К1. Кроме того получен 1 патент на изобретение, результаты работы широко представлялись на конференциях различного уровня, в том числе на 37 Европейском Конгрессе патологов (37th European Congress of Pathology, 6-10 September 2025 Vienna, Austria). Несомненным преимуществом работы является тот факт, что диссертационная работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ МД-217.2020.7 в рамках проспективного клинического исследования NCT04817501 Phenotypic Spectrum of CTCs in Tumors of the Female Reproductive System (CTCs).

Соответствие автореферата содержанию диссертационной работы

Содержание автореферата полностью соответствует диссертационной работе, отражает ее содержание и соответствует требованиям пункта 25 «Положения о присуждении учёных степеней».

Принципиальных замечаний по диссертационной работе у меня нет. При прочтении возникли вопросы дискуссионного характера:

1. Насколько объективна морфологическая оценка серозных опухолей яичников высокой степени злокачественности в сравнении с низкой степенью злокачественности? Необходимо ли проводить дополнительную характеристику по оценке статуса белка p53?
2. Согласно современным представлениям серозные опухоли яичников высокой степени злокачественности характеризуются дефицитом гомологичной рекомбинации, который, во многом, определяет тактику лечения. Связан ли этот показатель со статусом исследуемых белков теплового шока Hsp27 и Hsp90?

В целом, я высоко оцениваю диссертационную работу Ковалева Олега Игоревича, в которой получен ряд важных для фундаментальной науки и клинической практики результатов.

Заключение

Диссертационная работа Ковалева Олега Игоревича «Особенности экспрессии молекулярных шаперонов при серозных опухолях яичников: связь с клеточным и белковым составом асцитической жидкости», является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена научно-практическая задача по поиску новых молекулярных маркеров серозного рака яичников, таких как белки теплового шока Hsp27 и Hsp90, нацеленных на оценку прогноза и на повышение эффективности терапии. По объему и методологическому уровню выполненных исследований, научной новизне, практической значимости полученных результатов, а также по количеству публикаций, диссертационная работа соискателя полностью соответствует пункту 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (в редакции от 25 января

2024 г.), а ее автор Ковалев Олег Игоревич заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.2.-патологическая анатомия и 1.5.4. – биохимия.

Руководитель лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза НИИ молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»
доктор биологических наук, профессор

 Гуляева Л.Ф.

Подпись д.б.н., профессора Гуляевой Л.Ф.: заверяю
ученый секретарь ФИТЦ ФТМ, д.б.н.



 Колдышева Е.В.

Дата: «6» мая 2026г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» 630117, Россия, Новосибирская область, г. Новосибирск, улица Тимакова, 2. Телефон: +7 (383) 274-95-80. E-mail: director@frcftm.ru. Сайт: www.frcftm.ru.

Личную подпись Гуляевой Л.Ф. заверяю
Колдышевой Е.В.
отдела кадров ФИЦ ФТМ
"06" 05 2026 г. подпись Е.В. Колдышева

