

«УТВЕРЖДАЮ»

заместитель генерального директора
ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр радиологии» Минздрава
России, член-корреспондент РАН

А.А.Костин

2020 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Кондратьевой Л.Г. «Роль регуляторных мастер генов в развитии рака поджелудочной железы», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

Актуальность темы

Рак поджелудочной железы (РПЖ) представляют собой одну из наиболее серьезных проблем для современной онкологии, особенно в индустриальных странах, по причине неуклонно растущей заболеваемости и высоких показателей смертности. Карциномы поджелудочной железы характеризуются агрессивным клиническим течением. Несмотря на существенные достижения диагностических технологий и успехи современных методов лечения, у большинства больных при первичном обращении опухоли этой локализации обнаруживают на запущенной стадии развития опухолевого процесса, и прогноз заболевания при этом крайне неблагоприятный. Разработка методов ранней диагностики РПЖ и способов эффективного лечения пациентов является насущной задачей, решение которой во многом связывают с изучением молекулярных механизмов, определяющих возникновение и прогрессию неопластических процессов в поджелудочной железе.

Диссертационная работа Кондратьевой Л.Г. построена на концепции, согласно которой в патогенезе злокачественных новообразований существенную роль играют, так называемые, мастер-гены, занимающие вершину в структуре иерархии регуляции генов, связанных с жизненным циклом и дифференцировкой клетки. Диссертационная работа ставит целью изучение потенциальной роли регуляторных генов, отвечающих за программы эмбриогенеза поджелудочной железы, в развитии РПЖ и влияния этих генов на метастатический потенциал опухолевых клеток.

Современный характер и актуальность диссертационной работы Кондратьевой Л.Г. не вызывает сомнений.

Для достижения поставленной цели автором выполнено сравнительное исследование уровней экспрессии ключевых мастер-генов поджелудочной железы (*PTF1a*, *PDX1*, *SOX9*, *GATA4* и *HNF1b*) в фетальной поджелудочной железе, в образцах опухолевой и нормальной ткани поджелудочной железы. Проведена характеристика свойств клеток линий РПЖ в аспекте экспрессии указанных мастер-генов и генов, связанных с ними регуляторной сетью. Отобрана и охарактеризована модель для изучения генетических особенностей клеток РПЖ, претерпевающих эпителиально-мезенхимальный переход, который рассматривают как один из важнейших механизмов метастазирования. С применением генно-инженерных технологий созданы клеточные линии РПЖ со стабильной экспрессией одного из ключевых регуляторных генов – *PDX1* и исследовано его влияние на экспрессию эпителиальных и мезенхимальных маркеров в клетках РПЖ. Изучено влияние экзогенной экспрессии *PDX1* на пролиферативный потенциал и миграционную способность клеток РПЖ *in vitro* и *in vivo* на модели эмбрионов *Danio rerio*.

Степень обоснованности и достоверности результатов исследования

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Для получения результатов автором использован комплекс самых современных методов клеточной и молекулярной биологии, генной инженерии. Описание методик

содержит все существенные детали, необходимые для понимания организации этапов и оценки объема выполненной работы. Исследование проведено с использованием репрезентативного количества образцов нормальной ткани поджелудочной железы и РПЖ. Дизайн и последовательность выполнения каждого этапа работы обоснованы. Влияние мастер-гена *PDX1* на миграционную активность клеток РПЖ, выявленные в модельных исследованиях *in vitro*, подтверждены экспериментами *in vivo*, на модели ксенографта трансдуцированных *PDX1* клеток у рыб *Danio rerio*. Получаемые данные грамотно и тщательно обработаны с применением адекватных методов статистического анализа. Автор последовательно решает поставленные задачи и объективно интерпретирует полученные результаты. Представленный экспериментальный материал не вызывает сомнений в достоверности полученных результатов. Выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы и непосредственно следуют из результатов выполненной работы. Полученные результаты опубликованы в ведущих отечественных рецензируемых журналах и зарубежном научном издании.

Новизна исследования и полученных результатов

Диссертационная работа включает в себя комплекс оригинальных исследований, в рамках которых охарактеризована экспрессия ключевых генов-регуляторов развития поджелудочной железы (*PDX1*, *PTF1a*, *SOX9*, *GATA4*, *HNF1b*) в образцах нормальной поджелудочной железы, фетальной поджелудочной железы и образцах РПЖ. Получены новые результаты, показавшие дифференциальный характер экспрессии этих генов в нормальных и опухолевых тканях, а также в клеточных линиях РПЖ, отличающихся степенью дифференцировки клеток. Выявлено, что в ткани РПЖ не наблюдается ожидаемого восстановления экспрессии мастер-генов, ассоциированных с эмбриональным развитием. На моделях *in vitro*, с применением трансдуцированных клеточных линий исследованы функциональные эффекты гомеозисного гена *PDX1*, транскрипционного фактора, играющего ключевую роль

в развитии поджелудочной железы. Впервые на модели *Danio rerio* продемонстрированы антиметастатический потенциал *PDX1*. Полученные результаты носят приоритетный характер, о чем свидетельствует внимание к публикациям автора международного научного сообщества.

Научно-практическая значимость работы

Полученные автором результаты имеют существенное значение для развития фундаментальных представлений о патогенезе РПЖ и несут в себе практическую значимость. Разработанные автором подходы и модели, а также полученные характеристики экспрессии мастер-генов в клетках РПЖ, задают направление дальнейшего развития исследований. Важным результатом является наблюдение, что для ткани РПЖ характерно пониженное содержание транскрипта *PDX1*. Установленная автором способность *PDX1* подавлять миграционные свойства опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo* дает основания полагать, что этот регуляторный ген может быть основой для создания генно-терапевтических средств, направленных на подавление метастазирования РПЖ.

Замечания по диссертационной работе.

В автореферате диссертации присутствуют немногочисленные опечатки и стилистические неточности (как, например, «клетки предшественники поджелудочной железы»). Разделы автореферата, отражающие новизну и практическую значимость работы, содержат, на наш взгляд, избыточную информацию, детализирующую методики и полученные результаты.

Данные замечания не носят принципиального характера и не снижают высокой научной ценности представленной диссертации.

Заключение

Диссертация Кондратьевой Л.Г. является законченной научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства

Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016 г., №1024 от 28.08.2017 г. и №1168 от 01.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а диссертант заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Отзыв был обсужден и утвержден на семинаре отделения Прогноза эффективности консервативного лечения Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена - филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 8 от 08.06.2020 г.

Ведущий научный сотрудник
отделения прогноза эффективности
консервативного лечения
МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала
ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России
доктор биологических наук

Кармакова Татьяна Анатольевна

Подпись доктора биологических наук Т.А.Кармаковой ЗАВЕРЯЮ

Ученый секретарь МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России



Жарова Елена Петровна