

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Лии Германовны Кондратьевой «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 выполненной работы

Рак поджелудочной железы (ПЖ) остается одним из наиболее тяжелых онкологических заболеваний. Например, в США: если в целом 5-летняя выживаемость при онкологических заболеваниях всех локализаций составляла в 1975-77 гг. – 49%, в 1987-89 гг. – 55%, в 2007-13 гг. – 69%, то при диагностированном раке ПЖ эти цифры намного хуже: 3%, 4% и 9%, соответственно, обеспечивая этому заболеванию 4-е место по смертности среди всех онкозаболеваний [Cancer facts & Figures 2018. American Cancer Society; <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2018/cancer-facts-and-figures-2018.pdf>]. В Российской Федерации ситуация не лучше [Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). П/ред. А.Д. Каприна и др., Москва, 2019]. Именно поэтому актуальна проблема разработки новых подходов для терапии рака ПЖ. Современные молекулярно-биологические исследования особенностей опухолевой клетки позволяют разносторонне рассматривать канцерогенез и, в том числе, искать пути воздействия на раковые клетки, используя нормальные клеточные программы. В диссертации Кондратьевой Лии Германовны рассмотрены общие черты процессов эмбриогенеза и канцерогенеза и исследуется гипотеза о ключевой роли мастер генов эмбриогенеза в опухолевой прогрессии на модели рака ПЖ.

Научная новина и практическая значимость

Исследование, проведенное в рамках диссертационной работы, посвящено разработке двух задач – исследованию возможной рекапитуляции экспрессии предложенных эмбриональных мастер генов ПЖ в опухоли и исследованию их роли в процессе эпителиально-мезенхимального перехода и метастазирования. В рамках первой части работы выбраны ключевые регуляторы эмбрионального развития ПЖ и сопоставлены уровни их экспрессии в раковых, нормальных и фетальных образцах ПЖ человека. Ценность представляют результаты по экспрессии генов в фетальной ПЖ, поскольку большая часть известных из литературы данных получены для мыши и на мышинных эмбрионах, а для человека таких данных крайне мало. На основании полученных результатов автор делает вывод о том, что гипотеза о рекапитуляции для

выбранных генов и данного вида рака не соблюдается. Впервые была обнаружена корреляция экспрессии генов *PDX1* и *SOX9*, а также *PDX1* и *GATA4*, в опухолевых образцах рака ПЖ. Автор указывает на сильную неоднородность в их уровнях экспрессии и делает заключение о том, что исследованные гены нельзя использовать в роли диагностических маркеров для аденокарциномы ПЖ.

Во второй части диссертации проведен поиск клеточной модели рака ПЖ для изучения эпителиально-мезенхимального перехода, которая была успешно найдена. На этой модели исследован эффект экзогенной экспрессии одного из охарактеризованных ранее мастер генов – *PDX1*. Впервые показано его влияние на экспрессию генов, связанных с процессом эпителиально-мезенхимального перехода. Отмечено действие *PDX1*, как позитивного регулятора клеточной пролиферации и негативного регулятора клеточной подвижности. Впервые показана обратимая способность *PDX1* подавлять миграционные свойства клеток рака ПЖ человека. Дальнейшие исследования в этом направлении и выявление того, как *PDX1* модулирует критические аспекты формирования рака, могут определить терапевтическую ценность использования этого гена для подавления метастатического потенциала раковых клеток.

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

Примененные автором современные молекулярно-биологические и цитологические методы полностью адекватны для достижения поставленной цели. Работа позволила получить большой объем экспериментального материала с помощью таких подходов как транскриптомный анализ, геновая инженерия, флуоресцентная микроскопия, проточная цитометрия, использованы модели как *in vitro*, так и *in vivo*. Представленные в работе результаты достоверны, сделанные выводы обоснованы и подтверждены экспериментальными данными. Результаты работы были опубликованы в 10 статьях и представлены на 11 российских и международных конференциях. Все это позволяет сделать заключение о достоверности и высокой репрезентативности результатов и выводов диссертации. Представленные в автореферате результаты полностью отражают проведенные исследования.

Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному плану. Подавляющая часть результатов работы получена лично автором. Выводы обоснованы большим фактическим материалом и в полной мере отражают результаты исследования. Работа иллюстрирована 24

рисунками, содержит 6 таблиц. Библиографический список включает 194 литературных источника, соответствующих статьям и обзорам российских и зарубежных авторов.

Во введении автор обосновывает несомненную актуальность исследования, определяет научную новизну и практическую значимость. Обзор литературы охватывает результаты современных исследований рака, описывает ряд общих черт эмбрионального развития и злокачественной трансформации и канцерогенеза. Рассматривает сети транскрипционной регуляции эмбриогенеза ПЖ и особенности поведения транскрипционных регуляторов в раковых клетках. Обзор в полной мере отражает актуальное состояние исследованной проблематики. Все приведенные в обзоре литературы данные указывают на чрезвычайную важность и значимость предпринятого исследования.

Экспериментальные методы, использованные в представленной диссертации, указывают на высокий профессиональный уровень работы.

Вопросы и замечания по диссертации

При знакомстве с представленной диссертацией возникают вопросы и небольшие замечания, требующие дополнительных комментариев и разъяснений диссертанта:

1. Нет четкого обоснования выбора именно тех мастер-генов, которые Л.Г. Кондратьева исследовала. В диссертации есть фраза (стр.21): “Среди таких потенциальных мастер генов, deregulated у человека, мы выделили потенциальные мастер регуляторные гены *PDX1*, *PTF1A*, *SOX9*, *GATA4* и *HNF1b*”; в автореферате – аналогичная фраза (стр. 4): “Среди них мы выделили потенциальные мастер регуляторные гены *PDX1*, *PTF1A*, *SOX9*, *GATA4* и *HNF1b*, активность которых имеет ключевое значение для развития поджелудочной железы и дисрегуляция которых играет принципиально важную роль при канцерогенезе ПЖ”. Почему именно их? Каковы мотивы именно такого выбора?

2. Некоторые приведенные методики описаны недостаточно подробно, например, остается неясной, а потому, возможно, трудновоспроизводимой методика проведения пролиферативного теста и анализов, выполненных с помощью проточной цитофлуориметрии.

3. Автор объясняет отсутствие эффекта рекапитуляции мастер-генов, заложенного в изначальную гипотезу диссертации, в том числе обильным стромальным компонентом опухолей ПЖ. Предпринимались ли попытки каким-либо образом оценить его наличие и долю в исследованных образцах?

Очевидно, что эти моменты, хотя и нуждаются в пояснениях, но не влияют на общую высокую оценку диссертационной работы.

Заключение

Диссертация Кондратьевой Лии Германовны «Роль регуляторных мастер генов в развитии рака поджелудочной железы», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «03.01.03 – Молекулярная биология» представляет собой законченную научно-квалификационную работу высокого уровня. Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9-14 «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 ее автор Кондратьева Лия Германовна несомненно заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Официальный оппонент
член-корреспондент РАН
доктор биологических наук, профессор
профессор Биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова
зав. лабораторией молекулярной генетики внутриклеточного транспорта
Института биологии гена РАН


Александр Сергеевич Соболев

Контактные данные:
Телефон: (499) 135-3100
E-mail: alsobolev@yandex.ru
Почтовый адрес: 119334, ул. Вавилова, дом 34/5
Институт биологии гена РАН

Подпись чл.-корр. РАН А.С. Соболева удостоверяю:
Заместитель директора ИБГ РАН
кандидат биологических наук


Г.В. Мансурова



04.06.2020