

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента, заведующего кафедрой патологической физиологии имени академика А.А. Богомольца Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации Афанасьевой Галины Александровны на диссертацию Дунаева Павла Дмитриевича «Механизмы вторичной резистентности к таргетным препаратам в патогенезе гастроинтестинальных стромальных опухолей», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук в диссертационный совет 21.2.012.02 при ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящее время терапия злокачественных новообразований продолжает оставаться одной из серьезных проблем фундаментальной и клинической медицины.

На фоне таргетной терапии метастатических и рецидивирующих форм рака у многих больных развивается резистентность опухолевых клеток к применяемым препаратам, что требует проведения научных исследований по изучению механизмов данного патологического процесса.

В диссертационной работе Дунаева П.Д. исследуются механизмы вторичной (т.е. приобретенной) резистентности клеток гастроинтестинальных стромальных опухолей (ГИСО) к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов – иматинибу, сунитинибу, регорафенибу, которые, соответственно, являются препаратами первой, второй и третьей линии таргетной терапии указанных опухолей. Согласно литературным данным, более чем у половины больных с диссеминированными формами ГИСО через 2 года от начала терапии развивается резистентность к таргетному препарату иматинибу.

Препараты сунитиниб и регорафениб обладают более высоким профилем токсичности по сравнению с иматинибом. Кроме того, в клетках ГИСО формируется приобретенная резистентность к данным тирозинкинасным ингибиторам. Развитие вторичной резистентности ГИСО к таргетным препаратам может происходить за счет различных механизмов, среди которых следует особо отметить активацию внутриклеточных сигнальных каскадов, приводящих к пролиферации опухолевых клеток.

Результаты современных научных исследований демонстрируют участие FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в механизмах резистентности

разнообразных опухолей к таргетным препаратам (например, рака легкого, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака желудка, рака толстого кишечника, рака печени и желчевыводящих путей, остеосаркомы и др.).

Роль FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в патогенезе ГИСО остается недостаточно изученной. В частности, требуется исследование возможности аутокринной продукции клетками ГИСО фактора роста фибробластов второго типа (FGF-2) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A) с вероятной последующей активацией соответствующих рецепторов (FGFR и VEGFR) и запуском альтернативного механизма пролиферации опухолевых клеток. Изучение обозначенных механизмов позволит уточнить патогенез ГИСО и разработать новые стратегии таргетной терапии опухолей.

С этой позиции диссертационное исследование Дунаева П.Д. обладает очевидной актуальностью, поскольку целью работы является изучение механизмов активации FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в ГИСО и их роли в формировании вторичной резистентности опухолевых клеток к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов, т.е. к таргетным препаратам иматинибу, сунитинибу, регорафенибу.

СТЕПЕНЬ ОБОСНОВАННОСТИ И ДОСТОВЕРНОСТИ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ, ВЫВОДОВ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

Достоверность полученных в диссертационном исследовании результатов не вызывает сомнений. Работа Дунаева П.Д. представляет собой многолетнее экспериментальное исследование, которое проводилось с использованием нескольких сертифицированных лабораторных линий ГИСО. Дунаевым П.Д. выполнено огромное количество различных экспериментов с применением современных методов молекулярной биологии, биохимии и генетики, направленных на исследование экспрессии белков FGFR- и VEGFR-сигнальных путей, из взаимодействия и оценки мутационного статуса ГИСО. Статистическая обработка результатов исследования выполнена с помощью современных компьютерных программ GraphPad Prizm 7 (GraphPad Software, США) и NIH Image J software version 1.49 (National Institutes of Health, США).

НАУЧНАЯ НОВИЗНА ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ, ВЫВОДОВ И ПРАКТИЧЕСКИХ РЕКОМЕНДАЦИЙ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

В процессе выполнения диссертационного исследования Дунаевым П.Д. получены принципиально новые результаты, обуславливающие научную

новизну работы. Автором впервые продемонстрировано, что вторичная резистентность ГИСО к таргетным препаратам (иматинибу, сунитинибу и регорафенибу) развивается вследствие формирования альтернативного механизма пролиферации опухолевых клеток, связанного с активацией FGFR- и VEGFR-сигналинга и снижением KIT-сигналинга.

Дунаевым П.Д. впервые установлено, что активация FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в клетках ГИСО происходила за счет аутокринной продукции лигандов FGF-2 и VEGF-A.

Автором впервые обнаружено взаимодействие между тирозинкиназными рецепторами c-KIT и FGFR1-2 в клетках ГИСО на структурном и функциональном уровнях. В результате, комбинация таргетного препарата иматиниба с селективными ингибиторами FGFR-сигналинга (BGJ398, AZD4547, TAS-120) обладала выраженным синергизмом и обеспечивала гибель клеток ГИСО по механизму апоптоза. Дунаевым П.Д. убедительно показано, что активация VEGFR-сигналинга в клетках ГИСО является вторичным событием, обусловленным аутокринной продукцией опухолевыми клетками FGF-2 лиганда. Следует особо отметить обнаруженное автором структурное и функциональное взаимодействие между тирозинкиназными рецепторами FGFR1-2 и VEGFR1-2 в клетках ГИСО, резистентных к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов. Следствием данного взаимодействия явилась способность селективного ингибитора FGFR-сигналинга (BGJ398) восстанавливать чувствительность клеток ГИСО к ингибиторам VEGFR-сигналинга – сунитинибу и регорафенибу.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ И ЕЕ ОФОРМЛЕНИЕ

Диссертация имеет классическую структуру и изложена на 268 страницах машинописного текста. Разделы диссертации: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований автора (включают 6 разделов), обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Далее в диссертации расположен список сокращений и список использованной автором литературы, включающий 247 источников, из которых 26 являются отечественными, а 221 – зарубежными. Текст диссертации дополнен 60 рисунками и 16 таблицами. В самом конце диссертации помещен список иллюстративного материала.

Во «Введении» обосновывается актуальность изучаемой проблемы, автор определяет цель и задачи исследования, раскрывает научную новизну,

теоретическую и практическую значимость работы, излагает методологию исследования, формулирует положения, выносимые на защиту. Далее автор свидетельствует о достоверности результатов и перечисляет конференции, на которых доложены основные положения диссертации. Во «Введении» также отражено личное участие автора, количество публикаций по теме диссертации, объём и структура диссертационного исследования.

Первая глава посвящена обзору литературы, который изложен хорошим языком, читается с интересом. Рассматривая механизмы резистентности ГИСО к таргетным препаратам, автор указывает на недостаточную изученность проблемы, тем самым, подчеркивая актуальность собственного экспериментального исследования.

Во второй главе дана общая характеристика материала и методов исследования, использованных в работе. Автор описывает клеточные линии ГИСО, методику их культивирования и хранения. В главе перечислены первичные и вторичные антитела, а также таргетные препараты, которые применялись для проведения экспериментов. Дунаевым П.Д. приводится детальное описание метода иммуноблоттинга, МТТ-теста, выделения РНК клеток, оценки экспрессии генов методом полимеразной цепной реакции. Особого внимания заслуживает метод ко-иммунопреципитации, с помощью которого исследовалась структурная и функциональная взаимосвязь между тирозинкиназными рецепторами c-KIT, FGFR, VEGFR. Избранные автором методы исследования являются современными и соответствуют поставленным задачам.

В третьей главе, состоящей из шести разделов, представлены результаты собственных исследований автора. В первом разделе главы Дунаев П.Д. рассматривает экспрессию рецепторных и нерепрептрных тирозинкиназ в клетках ГИСО, чувствительных и резистентных к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов. Во втором разделе главы автор исследует активацию FGFR-сигналинга в клетках ГИСО. Третий раздел главы посвящен изучению способности селективных ингибиторов FGFR-сигналинга (BGJ398, AZD4547, TAS-120) модулировать чувствительность клеток ГИСО к таргетному препарату иматинибу. В четвертом разделе главы Дунаевым П.Д. показана гетерогенность иматиниб-резистентной клеточной линии ГИСО с отсутствующими вторичными мутациями *KIT*. В пятом разделе главы изучена FGF-2-опосредованная активация VEGFR-сигнального пути в клетках ГИСО. В шестом разделе главы автором изучена способность ингибитора FGFR-

сигналинга (BGJ398) модулировать чувствительность клеток ГИСО к VEGFR-ингибиторам (сунитиниб и регорафениб).

Далее следует глава, посвященная обсуждению полученных автором результатов. Дунаев П.Д. подводит итог проделанной экспериментальной работы, сопоставляя свои результаты с данными, опубликованными в других научных источниках. Иллюстративный материал в тексте диссертации (рисунки и таблицы) способствует более тщательному анализу полученных автором результатов. Сформулированные автором выводы и практические рекомендации являются логическим следствием материала диссертации, объективно и полно отражая основные положения проведенного исследования.

ОЦЕНКА ЛИЧНОГО ВКЛАДА АВТОРА

Дунаев П.Д. изучил актуальность научной проблемы и проанализировал степень ее изученности, самостоятельно сформулировал цель и задачи исследования, разработал дизайн необходимых экспериментов с использованием современных методов молекулярной биологии, биохимии и генетики. Диссертант выполнил статистическую обработку полученных результатов, написал главы диссертации, подготовил к публикации статьи и тезисы. Представленные в работе выводы и практические рекомендации, а также перспективы дальнейшей разработки темы являются итогом личной работы автора.

ПУБЛИКАЦИИ, ВНЕДРЕНИЕ В ПРАКТИКУ И АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ

Основные положения диссертации отражены в 28 печатных работах, в том числе в 15 статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и входящих в международные базы цитирования (Scopus, Web of Science), включая 2 – в журналах ВАК (K1, K2) и 9 – в журналах Scopus и Web of Science (Q1, Q2).

Практические рекомендации, полученные по итогам работы, внедрены в учебный процесс и научно-исследовательскую работу ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (г. Пермь), ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва).

СОДЕРЖАНИЕ АВТОРЕФЕРАТА

Автореферат написан по классическому принципу и полностью соответствует материалам диссертационного исследования. Замечания по содержанию автореферата отсутствуют.

ЗАМЕЧАНИЯ И ВОПРОСЫ ПО ДИССЕРТАЦИИ

Разделы диссертации Дунаева П.Д. изложены четко и последовательно. Выводы конкретны и обоснованы, их содержание соответствует поставленным задачам и логично вытекает из анализа фактического материала. Практические рекомендации целесообразны и выполнимы. Диссертационную работу Дунаева П.Д. характеризую как объемное, целостное исследование, выполненное на высоком научно-методическом уровне.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет. В порядке дискуссии автору предлагаются следующие вопросы:

1) Представлены ли в научной литературе данные о роли FGFR-сигнального пути в формировании резистентности опухолевых клеток к химиопрепаратам?

2) Как Вы считаете, почему не обнаружилось структурного и функционального взаимодействия между тирозинкиназными рецепторами FGFR1-2 и VEGFR1-2 в иматиниб-резистентных клетках ГИСО 430?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Дунаева П.Д. на тему: «Механизмы вторичной резистентности к таргетным препаратам в патогенезе гастроинтестинальных стромальных опухолей» на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология, выполненная при научном консультировании доктора медицинских наук, профессора Бойчука С.В., является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой представлено решение научной проблемы по изучению альтернативных механизмов пролиферации клеток гастроинтестинальных стромальных опухолей в условиях действия ингибиторов тирозинкиназных рецепторов (иматиниба, сунитиниба, регорафениба), имеющей существенное значение для патологической физиологии.

По актуальности, научной новизне и практической значимости диссертация Дунаева П.Д. «Механизмы вторичной резистентности к таргетным препаратам в патогенезе гастроинтестинальных стромальных опухолей» полностью соответствует требованиям ВАК Министерства науки и

высшего образования РФ (п.9. «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства РФ 24.09.2013г., №842, в действующей редакции Постановления Правительства РФ от 16.10.2024 г., №1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор, Павел Дмитриевич Дунаев, достоин присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук,
(специальность 3.3.3 патологическая физиология),
доцент,
заведующий кафедрой
патологической физиологии
имени академика А. А. Богомольца
ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ
им. В. И. Разумовского
Минздрава России



Афанасьева Галина Александровна

« 25 » июня 2025 г.

Подпись д-ра мед. наук, доцента Г.А. Афанасьевой заверяю:

Ученый секретарь
ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ
им. В. И. Разумовского
Минздрава России
доктор медицинских наук, доцент



Липатова Татьяна Евгеньевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112. Телефон: (8452) 49-33-03, 27-33-70 E-mail: meduniv@sgmu.ru Адрес в сети Интернет: <https://sgmu.ru/>