

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, Кирсанова Кирилла Игоревича на диссертацию Дунаева Павла Дмитриевича «Механизмы вторичной резистентности к таргетным препаратам в патогенезе гастроинтестинальных стромальных опухолей», представленную на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

1. Актуальность избранной темы диссертационного исследования для медицинской науки и практики

Среди злокачественных новообразований неэпителиального происхождения следует отметить гастроинтестинальные стромальные опухоли (ГИСО), развивающиеся из интерстициальных клеток Кахаля, которые являются регуляторами моторики желудочно-кишечного тракта. Наиболее часто ГИСО локализуются в желудке и тонком кишечнике, а также в двенадцатиперстной и прямой кишке, с частотой встречаемости 15–20 случаев на 1 млн. населения. Средний возраст пациентов с ГИСО составляет 50–60 лет. При прогрессировании ГИСО характерно развитие метастазов в печени и в брюшине. Пролиферация клеток ГИСО обусловлена взаимоисключающими мутациями генов *KIT* или *PDGFRA*, приводящими к гиперэкспрессии соответствующих тирозинкиназных рецепторов с-KIT или PDGFR α , посредством которых возникает активация внутриклеточных белков, обеспечивающих вступление клетки в цикл деления. Особый интерес к исследованию патогенеза ГИСО обусловлен тем, что данные злокачественные новообразования считаются одним из первых примеров успешной таргетной терапии солидных опухолей ингибиторами тирозинкиназ. Препаратом первой линии таргетной терапии ГИСО является иматиниб – неселективный ингибитор тирозинкиназных рецепторов с-KIT или PDGFR α . К сожалению, в среднем через 15–24 месяца от начала терапии иматинибом в опухолевых клетках формируется резистентность к препарату. В этом случае пациенту назначается препарат второй линии – сунитиниб, а при его непереносимости – препарат третьей линии – регорафениб. Препараты сунитиниб и регорафениб – являются мультикиназными ингибиторами, блокирующими с-KIT, PDGFR α , рецепторы фактора роста

эндотелия сосудов (VEGFR1-3), а также другие тирозинкиназы. Проблема таргетной терапии ГИСО заключается в развитии резистентности опухолевых клеток к сунитинибу и регорафенибу, а также в более высокой токсичности указанных препаратов, по сравнению с иматинибом. Приобретенная (вторичная) резистентность ГИСО к таргетным препаратам может быть обусловлена изменением киназного сигналинга в опухолевых клетках. С данной точки зрения диссертация Дунаева П.Д. отличается очевидной актуальностью, поскольку автором исследован киназный профиль клеток ГИСО и определены рецепторные тирозинкиназы, играющие ключевую роль в пролиферации клеток ГИСО, а именно, рецепторы фактора роста фибробластов (FGFR1-2) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR1-2). Выполненное Дунаевым П.Д. диссертационное исследование направлено на поиск новых стратегий терапии ГИСО, резистентных к таргетным препаратам.

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

Обоснованность научных положений диссертационного исследования Дунаева П.Д. подтверждается, прежде всего, хорошо продуманным дизайном работы. В начале автор исследует активность в клетках ГИСО рецепторных и нерецепторных тирозинкиназ и далее на основании полученных результатов подбирает комбинации таргетных препаратов для достижения гибели опухолевых клеток. Эксперименты были выполнены на нескольких клеточных линиях ГИСО, имеющих различное происхождения и экспрессию *KIT*. Важно отметить, что резистентные к таргетным препаратам клеточные линии ГИСО T1-IM-R и ГИСО T1-IM-R-2 были получены при личном участии автора. Обоснованность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации Дунаева П.Д. подтверждается многолетним изучением патогенеза ГИСО, а также использованием автором современных методов молекулярной биологии, генетики и биохимии. Полученные автором результаты были подвергнуты статистическому анализу с использованием современных программ, что также подтверждает обоснованность научных положений, сформулированных в диссертации.

3. Достоверность и научная новизна полученных автором результатов

Достоверность научных результатов, представленных в диссертационной работе Дунаева П.Д. подтверждается большим объемом выполненных экспериментов и многолетним характером исследования. Экспрессия компонентов FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в клетках ГИСО была изучена автором с использованием множества современных лабораторных методов: иммуноблоттинг, иммуноферментный анализ, иммунофлуоресцентная микроскопия и проточная цитометрия. Взаимодействие между тирозинкиназными рецепторами с-KIT и FGFR1-2, а также FGFR1-2 и VEGFR1-2 исследованы с помощью ко-иммунопреципитации и флуоресцентного ко-локализационного анализа. Заслуживает внимания метод оценки пролиферативной активности клеток ГИСО в режиме реального времени с использованием прибора iCELLigence.

Научная новизна полученных автором результатов заключается в обнаружении и изучении новых молекулярных механизмов вторичной резистентности ГИСО к тирозинкиназным ингибиторам, связанных с активацией в опухолевых клетках FGFR- и VEGFR-сигнальных путей. Следует отметить, что первично в клетках ГИСО возникала активация FGFR-сигналинга, за счет которого происходила последующая активация VEGFR-сигнального пути. Автор убедительно показал, что активация FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в клетках ГИСО развивается по аутокринному механизму за счет продукции опухолевыми клетками фактора роста фибробластов 2 типа (FGF-2) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A). Дунаевым П.Д. впервые обнаружена структурная и функциональная взаимосвязь между рецепторами с-KIT и FGFR1-2, а также FGFR1-2 и VEGFR1-2 в клетках ГИСО, что позволило разработать новые схемы их таргетной терапии в виде использования комбинации иматиниба с селективными ингибиторами FGFR-сигналинга (BGJ398, AZD4547 и TAS-120), либо комбинации селективного ингибитора FGFR-сигнального пути (BGJ398) с ингибиторами VEGFR-сигналинга (сунитиниб, регорафениб).

4. Оценка теоретической и практической значимости диссертации

Результаты, полученные автором, раскрывают новые механизмы приобретенной резистентности ГИСО к таргетным препаратам, обусловленные активацией альтернативных путей пролиферации опухолевых

клеток за счет FGFR- и VEGFR-сигналинга. Данные результаты, уточняя патогенез ГИСО, имеют важное значение для патологической физиологии и могут быть использованы для преподавания студентам и клиническим ординаторам раздела дисциплины «Патофизиология опухолевого роста».

Следует отметить, что научные результаты, представленные в диссертации Дунаева П.Д., имеют также практическую направленность, актуальную для врачей-онкологов. У пациентов с диссеминированными формами ГИСО, по практической рекомендации автора, требуется исследование в плазме крови концентрации FGF-2 и VEGF-A. Повышенная сывороточная концентрация указанных лигандов может свидетельствовать о развитии резистентности ГИСО к таргетному препарату иматинибу. В случае обнаружения в опухолевых образцах иматиниб-резистентных ГИСО гиперэкспрессии компонентов FGFR- и VEGFR-сигнальных путей (FGF-2 лиганда, фосфорилированных и общих форм его рецепторов FGFR1-2 и адаптерного белка FRS-2; VEGF-A лиганда, фосфорилированных и общих форм его рецепторов VEGFR1-2) эффективность таргетной терапии может быть достигнута за счет применения ингибитора FGFR-сигнального пути (инфигратиниб) и ингибиторов VEGFR-сигналинга (сунитиниб, регорафениб). Таким образом, научные результаты, полученные Дунаевым П.Д. способствуют разработке новых стратегий терапии ГИСО, резистентных к таргетным препаратам.

5. Оценка содержания диссертации, её завершенность, публикации автора

Диссертационная работа изложена на 268 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, главу с материалами и методами исследования, 6 подглав результатов собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Список литературы содержит 247 источников, среди которых большинство работ были опубликованы в течение последних 5-7 лет. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 60 рисунками.

В обзоре литературе подробно изложены молекулярно-генетические и клинические характеристики ГИСО, описаны тирозинкиназные ингибиторы (иматиниб, сунитиниб, регорафениб), применяемые для лечения пациентов с неоперабельными, метастатическими и рецидивирующими формами ГИСО, а также механизмы резистентности опухолевых клеток к указанным таргетным

препаратам. В последнем разделе обзора литературы автор рассматривает роль FGFR- и VEGFR-сигналинга в канцерогенезе, указывая недостаточную изученность проблемы в отношении ГИСО, тем самым, обосновывая актуальность своей диссертационной работы.

В главе, посвящённой материалу и методам исследования, изложены протоколы экспериментов, применяемых Дунаевым П.Д. для получения результатов. Автор подробно описывает процесс культивирования клеток ГИСО, оценку их пролиферации и жизнеспособности, методику иммуноблоттинга и ко-иммунопреципитации, этапы иммунофлуоресцентной микроскопии и генетического анализа. Все методы, использованные Дунаевым П.Д., основаны на современных достижениях молекулярной биологии, биохимии и генетики, что подчеркивает достоверность полученных результатов и научно-практическую ценность диссертации.

Результаты собственных исследований автора представлены в виде 6 подглав. Автор описывает полученные данные по исследованию механизмов активации FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в клетках ГИСО, изучает комбинации тирозинкиназных ингибиторов для достижения антипролиферативного и цитотоксического эффектов в отношении опухолевых клеток, вычисляет показатель синергизма таргетных препаратов. Описание результатов сопровождается многочисленными рисунками и таблицами, что облегчает их интерпретацию.

Далее автор обсуждает полученные результаты, сравнивая их с данными, опубликованными другими научными коллективами. После тщательного анализа полученных результатов автор предлагает итоговую схему, где представлены механизмы активации FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в клетках ГИСО и их роль в развитии резистентности к таргетным препаратам.

В заключении Дунаев П.Д. подводит итог проделанной экспериментальной работы формулируя выводы и практические рекомендации, содержание которых полностью отражает полученные автором результаты. Диссертация написана ясным литературным языком, легко читается и хорошо выверена в отношении орфографических и стилистических ошибок. Автореферат полностью соответствует содержанию машинописного текста диссертации.

По теме диссертации автором опубликовано 28 печатных работ по специальности 3.3.3. Патологическая физиология, в т.ч. 15 статей в

рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и входящих в международные базы цитирования (Scopus, Web of Science), что полностью соответствует требованиям к публикациям основных научных результатов на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Принципиальных замечаний при чтении и анализе диссертационной работы, выполненной Дунаевым П.Д., не возникло. Имеется лишь необходимость задать автору несколько уточняющих вопросов:

1) Вы обнаружили активацию FGFR- и VEGFR-сигналинга в клетках ГИСО. Подскажите, какие еще тирозинкиназы, согласно литературным данным, участвуют в развитии резистентности ГИСО к таргетным препаратам?

2) Существуют ли таргетные препараты одновременно блокирующие FGFR- и VEGFR-сигнальные пути? Используются ли они в клинической онкологии?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация, выполненная Дунаевым Павлом Дмитриевичем, 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 представляет собой научно-квалификационную работу, в которой отражено решение важной научной проблемы патологической физиологии, касающейся понимания механизмов приобретенной резистентности гастроинтестинальных стромальных опухолей к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов, обусловленных активацией FGFR- и VEGFR-сигнальных путей.

Учитывая актуальность темы исследования, достоверность и научную новизну полученных автором результатов, а также их теоретическую и практическую значимость, диссертация Дунаева П.Д. «Механизмы вторичной резистентности к таргетным препаратам в патогенезе гастроинтестинальных стромальных опухолей» полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., в действующей редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1382 от 16.10.2024 г., предъявляемым к докторским диссертациям, а автор диссертации, Дунаев

Павел Дмитриевич, заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по научной специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
заведующий лабораторией
канцерогенных веществ
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России



Кирсанов Кирилл Игоревич

« 23 » сентября 2025 г.

Подпись д-ра биол. наук Кирсанова К.И. заверяю:

Ученый секретарь
НИИ канцерогенеза
ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
канд. биол. наук



Гудкова Маргарита Владимировна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 115522, г. Москва, Каширское шоссе 24
Телефон: +7 (499) 444-24-24, электронная почта: otdplan@ronc.ru
Официальный сайт: <https://www.ronc.ru/>