



«УТВЕРЖДАЮ»

проректор по научной работе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
доктор биологических наук, профессор
Ребриков Д.В.

« 05 » августа 2025 г.

ОТЗЫВ

ведущего учреждения о научно-практической значимости диссертационной работы Дунаева Павла Дмитриевич **«Механизмы вторичной резистентности к таргетным препаратам в патогенезе гастроинтестинальных стромальных опухолей»**, представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. – Патологическая физиология

Актуальность темы выполненной работы. В Российской Федерации наблюдается рост заболеваемости раком. В частности, 2023 году было выявлено более 600 тыс. новых случаев злокачественных новообразований, что на 7,6% превышает показатели 2021 года. Распространенность гастроинтестинальных стромальных опухолей, развивающихся из интерстициальных клеток Кахаля, обладающих пейсмейкерной активностью и задающих ритм перистальтики полых органов ЖКТ. составляет около 10–15 случаев на 1 млн населения, достигая 3% всех злокачественных опухолей ЖКТ, что делает исследование патогенеза злокачественных новообразований весьма актуальными.

В настоящее время продемонстрировано, что резистентность опухолевых клеток к таргетным препаратам может быть обусловлена альтернативными механизмами активации внутриклеточных каскадов, направленных на поддержание жизнеспособности опухолевых клеток, их пролиферации и миграции. ГИСО считаются одним из первых примеров успешной таргетной терапии солидных опухолей ингибиторами тирозинкиназ – иматинибом,

сунитинибом и регорафенибом. Тем не менее, роль фактора роста фибробластов 2 типа (FGF-2) и его рецепторов FGFR1-2, а также фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A) и его рецепторов VEGFR1-2 в механизмах резистентности клеток ГИСО к таргетным препаратам остаются недостаточно изученными, что требует проведения научных исследований. Все вышеизложенное обуславливает актуальность и своевременность диссертационного исследования Дунаева П.Д.

Новизна исследований и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Научная новизна исследования заключается в том, что автором впервые показано, что в механизмах вторичной резистентности ГИСО к тирозинкиназным ингибиторам важную роль играет изменение киназного профиля опухолевых клеток. В иматиниб-резистентных клетках ГИСО обнаружены признаки активации FGFR- и VEGFR-сигнальных путей, что проявлялось повышением экспрессии рецепторных (FGFR1-2, VEGFR1-2) и нерецепторных (STAT1, MAPK- и AKT) тирозинкиназ. В тоже время, в опухолевых клетках отмечено ингибирование с-KIT-сигнального пути, что сопровождалось уменьшением экспрессии общей и фосфорилированной форм тирозинкиназного рецептора с-KIT. Автором впервые обнаружено, что активация FGFR- и VEGFR-сигнальных путей, возникающая на фоне ингибирования KIT-сигналинга, происходит аутокринным путем и является результатом гиперпродукции FGF-2 и VEGF-A лигандов опухолевыми клетками. Также автором впервые было обнаружено, что пролиферация клеток ГИСО, резистентных к тирозинкиназным ингибиторам, происходит, главным образом, за счет активации MAPK-киназного каскада.

Дунаевым П.Д. продемонстрирована структурная и функциональная взаимосвязь между тирозинкиназными рецепторами с-KIT и FGFR1-2 в иматиниб-резистентных клетках ГИСО с отсутствующими вторичными мутациями *KIT*. Вследствие указанной взаимосвязи обнаружена способность селективных ингибиторов FGFR-сигналинга (BGJ398, AZD4547, TAS-120) восстанавливать чувствительность иматиниб-резистентных клеток ГИСО к данному таргетному препарату.

Впервые показана гетерогенность иматиниб-резистентных ГИСО с формированием клонов опухолевых клеток, имеющих различный уровень экспрессии тирозинкиназного рецептора с-KIT. В клетках ГИСО с отсутствующей экспрессией *KIT* автором обнаружена гиперактивация FGFR-сигнального пути, что сопровождалось повышением их чувствительности к

селективным ингибиторам рецепторов FGFR1-4 (BGJ398, AZD4547 и TAS-120) по сравнению с другими клонами ГИСО.

Автором впервые продемонстрировано, что FGF-2 лиганд индуцирует продукцию VEGF-A в иматиниб-чувствительных и резистентных клетках ГИСО. Аутокринная продукция VEGF-A лиганда была более выражена в клетках ГИСО, резистентных к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов.

Впервые продемонстрирована структурная и функциональная взаимосвязь между тирозинкиназными рецепторами FGFR1-2 и VEGFR1-2 в клетках ГИСО, резистентных к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов (иматинибу, сунитинибу, регорафенибу). В результате, была обнаружена способность комбинации селективного ингибитора FGFR-сигналинга (BGJ398) с ингибиторами VEGFR-сигналинга (сунитиниб, регорафениб) индуцировать гибель клеток ГИСО по механизму апоптоза.

Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации основываются на достаточном количестве проведенных исследований и аргументировано доказываются соответствующими исследованиями. Полученные данные обработаны общепринятыми методами статистики (программное обеспечение GraphPad Prizm 7 (GraphPad Software, США) и NIH Image J software version 1.49 (National Institutes of Health, США), что позволяет считать результаты достоверными. Поставленные задачи решены полностью. Научные положения и выводы диссертации логично вытекают из проведенных исследований, что позволяет считать их обоснованными. Практические рекомендации соответствуют содержанию работы и заслуживают одобрения.

Научно-практическая ценность полученных автором результатов.

Полученные автором результаты о роли FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в механизмах вторичной резистентности клеток ГИСО к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов позволяют расширить современные представления о патогенезе данных злокачественных новообразований, способствуют разработке новых стратегий их таргетной терапии, а также уточнению критериев прогрессирования заболевания.

Предложен алгоритм коррекции таргетной терапии ГИСО: повышенная экспрессия FGF-2 и VEGF-A лигандов может указывать на формирование резистентности опухолевых клеток к таргетному препарату иматинибу и являться основанием для проведения повторного молекулярно-генетического исследования опухолевого материала с целью последующей коррекции

проводимой таргетной терапии; признаки активации FGFR-сигналинга в клетках ГИСО, проявляющиеся в виде повышенной экспрессии FGF-2 лиганда, фосфорилированных и общих форм его рецепторов FGFR1-2 и адаптерного белка FRS-2, могут указывать на активацию VEGFR-сигнального пути в опухолевых клетках, что требует назначения пациенту препаратов второй и третьей линии таргетной терапии – сунитиниба и регорафениба, ингибирующих VEGFR-сигнальный путь; активация FGFR-сигналинга в клетках ГИСО является предпосылкой для назначения пациенту комбинации таргетного препарата иматиниба с селективными ингибиторами FGFR-рецепторов (инфигратиниб).

Оценка содержания работы. Диссертация Дунаева П.Д. написана по традиционному плану и включает разделы: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы и список иллюстративного материала. Работа изложена на 268 страницах машинописного текста, иллюстрирована 60 рисунками и 18 таблицами. Список проанализированной автором литературы представлен 26 отечественными и 221 зарубежными источниками.

В главе «Введение» диссертант обосновал актуальность изучаемой научной проблемы и степень ее разработанности, сформулировал цель и задачи диссертационного исследования, его научную новизну, методологию и методы исследования, теоретическую и практическую значимость работы, а также положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» описаны клинико-морфологические особенности гастроинтестинальных стромальных опухолей, их молекулярно-генетические характеристики и принципы таргетной терапии. Кроме того, автором рассмотрены механизмы первичной и вторичной резистентности ГИСО к таргетным препаратам. Отдельный подраздел посвящен изучению роли FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в патогенезе злокачественных новообразований.

В главе «Материал и методы исследования» подробно изложены методические приемы с детальной расшифровкой технических нюансов выполнения работы, обосновывается целесообразность их использования и адекватность для решения поставленных задач. Диссертационная работа выполнена с применением современных методов биохимии, молекулярной биологии и генетики, среди которых следует отметить культивирование клеток ГИСО, оценку их жизнеспособности и пролиферативной активности;

анализ экспрессии белков методом иммуноблоттинга и их взаимодействия с помощью ко-иммунопреципитации; оценку экспрессии генов методом полимеразной цепной реакции; анализ вторичных мутаций *KIT* в клетках ГИСО с помощью секвенирования по методу Сэнгера; иммунофлуоресцентную микроскопия тирозинкиназных рецепторов в клетках ГИСО; исследование концентрации FGF-2 и VEGF-A в супернатантах ГИСО методом иммуноферментного анализа.

В главе «Результаты собственных исследований» последовательно представлены результаты экспериментов по исследованию роли FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в механизмах вторичной резистентности клеток ГИСО к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов (иматинибу, сунитинибу, регорафенибу). В первой части главы охарактеризован киназный профиль иматиниб-чувствительных и иматиниб-резистентных клеток ГИСО. Во второй части главы детально исследованы механизмы активации FGFR-сигнального пути в клетках ГИСО и его роль в формировании вторичной резистентности опухолевых клеток к таргетному препарату иматинибу. Третья часть главы посвящена изучению структурного и функционального взаимодействия между тирозинкиназными рецепторами c-KIT и FGFR1-2 в иматиниб-резистентных клетках ГИСО и модуляции их чувствительности к иматинибу посредством воздействия на FGFR-сигналинг. В четвертой части главы исследованы механизмы активации FGFR-сигнального пути в иматиниб-резистентных ГИСО со сниженной экспрессией *KIT* и их чувствительность к ингибиторам FGFR-рецепторов. В пятой части главы продемонстрирована роль фактора роста фибробластов 2 типа (FGF-2) в механизмах активации VEGFR-сигнального пути в клетках ГИСО. Кроме того, автором исследована чувствительность клеток ГИСО к ингибиторам VEGFR-сигнального пути (сунитиниб, регорафениб). Шестая часть главы посвящена изучению структурной и функциональной взаимосвязи между тирозинкиназными рецепторами FGFR1-2 и VEGFR1-2 в иматиниб-резистентных клетках ГИСО. В этом же разделе исследована возможность модуляции чувствительности иматиниб-резистентных клеток ГИСО к VEGFR-ингибиторам (сунитиниб и регорафениб) посредством ингибирования FGFR-сигнального пути.

После обсуждения результатов экспериментов и их сопоставления с данными зарубежных и отечественных исследований, Дунаев П.Д. делает выводы, которые полностью соответствуют поставленным задачам и являются закономерным итогом проделанной работы. Рисунки и таблицы, представленные в диссертации и подтверждающие результаты проведенных исследований, информативны, выполнены качественно, что является

несомненной ценностью работы. Автореферат написан по традиционному плану и полностью отражает основное содержание диссертационной работы.

Полученные в ходе диссертационного исследования результаты отражены в 28 опубликованных работах, в том числе 15-ти работах в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и входящих в международные базы цитирования (Scopus, Web of Science), из которых 2 – в журналах ВАК (K1, K2) и 9 – в журналах Scopus и Web of Science (Q1, Q2).

Принципиальных замечаний к работе нет. В тексте диссертации имеются незначительные стилистические и грамматические погрешности, которые не имеют принципиального значения и не снижают высокую научную и практическую значимость работы.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные автором результаты о роли FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в механизмах вторичной резистентности клеток ГИСО к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов и предложенный алгоритм коррекции таргетной терапии ГИСО могут быть использованы в практической деятельности для обоснования патогенетических подходов к терапии злокачественных новообразований, разработке новых стратегий их таргетной терапии, а также уточнению критериев прогрессирования заболевания.

Результаты диссертационного исследования Дунаева П.Д. внедрены в учебный процесс кафедры общей патологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России; кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ПФА Минздрава России (г. Пермь). Кроме того, результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую работу лаборатории цитогенетики НИИ Канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва).

Заключение.

Таким образом, диссертация Дунаева Павла Дмитриевича на тему «Механизмы вторичной резистентности к таргетным препаратам в патогенезе гастроинтестинальных стромальных опухолей», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук является законченной, научно-квалификационной работой, решающей научную проблему современной патологической физиологии, связанную с исследованием роли FGFR- и VEGFR-сигналинга в механизмах приобретенной резистентности клеток

гастроинтестинальных стромальных опухолей к ингибиторам тирозинкиназных рецепторов.

По актуальности темы, научной новизне, практической значимости полученных результатов и объёму выполненных исследований представленная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., в действующей редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1382 от 16 октября 2024 г., предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор - Дунаев Павел Дмитриевич, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по научной специальности 3.3.3. – Патологическая физиология.

Отзыв обсужден на заседании кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии Института биологии и патологии человека Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации 30.06. 2025г, протокол №8.

Почетный профессор, профессор кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии Института биологии и патологии человека ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет), ДМН, член-корреспондент РАН  Порядин Геннадий Васильевич «05» августа 2025 г.

Подпись профессора Порядина Г.В. заверяю:

Ученый секретарь
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России (Пироговский Университет),
кандидат медицинских наук, доцент  Демина Ольга Михайловна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117513, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1, строение 6
телефон: +7 (495) 434-14-22 электронная почта: rsmu@rsmu.ru
официальный сайт: <https://rsmu.ru/>