

## Заключение

диссертационного совета ДСУ 208.001.31 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

аттестационное дело № 74.01-07/241-2023

решение диссертационного совета от 18 декабря 2023 года № 6

О присуждении Епишкиной Анне Алексеевне, гражданке России, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Поиск эффективных механизмов контроля EGFR-опосредованного канцерогенеза», в виде рукописи по специальностям 3.3.2. Патологическая анатомия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология принята к защите 13 ноября 2023 г., протокол № 3/1 диссертационным советом ДСУ 208.001.31 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8, строение 2 (Приказ ректора № 1442/Р от 17.10.2023г.)

Епишкина Анна Алексеевна, 1993 года рождения, в 2016 году с отличием окончила Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия», г. Нижний Новгород по специальности «Лечебное дело».

В 2023 году окончила очную аспирантуру при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

С 2023 года работает ассистентом кафедры фундаментальной медицины Инженерно-физического института биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ» по настоящее время.

Диссертация «Поиск эффективных механизмов контроля EGFR-опосредованного канцерогенеза», по специальностям 3.3.2. Патологическая анатомия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология выполнена на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского и в Институте клинической морфологии и цифровой патологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

#### **Научные руководители:**

– доктор медицинских наук, профессор Демур Татьяна Александровна ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Институт клинической морфологии и цифровой патологии, директор;

– доктор медицинских наук, профессор Блинова Екатерина Валериевна ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Институт клинической медицины им. Н.В. Склифосовского кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, профессор кафедры;

#### **Официальные оппоненты:**

**Забозлаев Федор Георгиевич**, доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских

технологий Федерального медико-биологического агентства», патологоанатомическое отделение, заведующий отделением

**Сипров Александр Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва», кафедра фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии, профессор кафедры – дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва в своем положительном отзыве, подписанном доктором медицинских наук, профессором, заслуженным врачом РФ Тумановой Еленой Леонидовной – заведующим кафедрой патологической анатомии педиатрического факультета и член-корр. РАН, доктором медицинских наук, профессором, Шимановским Николаем Львовичем – заведующим кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева Медико-биологического факультета указала, что диссертация Епишкиной Анны Алексеевны «Поиск эффективных механизмов контроля EGFR-опосредованного канцерогенеза» является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи по повышению эффективности контроля внутриклеточных драйверных путей EGFR-опосредованного онкогенеза, имеющей существенное значение для патологической анатомии и фармакологии, клинической фармакологии. По новизне, актуальности решаемых задач, объему и методическому уровню проведенных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа А.А. Епишкиной полностью соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении

высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 06.06.2022 г. №0692/Р, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Анна Алексеевна Епишкина, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.2.Патологическая анатомия, 3.3.6.Фармакология, клиническая фармакология.

По теме диссертационного исследования опубликовано 13 работ, общим объемом 0,9 печатных листа в том числе 5 научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 4 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer), 1 иная публикация по результатам исследования, 3 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

#### **Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. Е. В. Блинова, О. Н. Дерябина, М. Ю. Кудрявцев, О. М. Тумутолова, А. А. Махрова, Д. С. Блинов, **А. А. Епишкина**, Ю. С. Гилевская, Е. А. Самышина, С. Я. Скачилова, К. К. Арутюнян Противоопухолевое действие нового производного дигидроакридина на экспериментальной модели рака мочевого пузыря. **Экспериментальная и клиническая фармакология.** – 2022. – Т. 85, №9. – С. 22–26. [Scopus], **оригинальная, авторский вклад определяющий;**
2. Е.В. Блинова, М.Ю. Кудрявцев, Д.Н. Шимановский, С.Я. Скачилова, **А.А. Епишкина**, Д.С. Блинов, О.М. Тумутолова, Е.А. Симакина, Ю.А.

Шифрин, О.Н. Дерябина, Е.В. Шилова, А.А. Махрова, К.К. Арутюнян  
Получение и механизм противоопухолевого действия соединения 4Н-аминохромена. **Химико-фармацевтический журнал.** – 2022. – Т. 56. – №1. – С. 15-18 [**Scopus**], **оригинальная, авторский вклад определяющий;**

3. А. А. Епишкина, О. Н. Дерябина, О. Н. Тумутолова, Блинов Д.С., Махрова А.А., Брыкин Г.В., Шимановский Д.Н., Блинова Е.В  
Морфологическая и иммуногистохимическая валидация персонализированной биологической *in vivo* платформы немелкоклеточного рака легкого человека. Журнал Анатомии и гистопатологии. - 2022. - Т. 11, № 4. - С. 53-57. [**Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета**] **оригинальная, авторский вклад определяющий.**

На автореферат диссертации поступили отзывы от: доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры патологической анатомии и клинической патологии с курсом судебно-медицинской экспертизы Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна», г. Москва - Дубовой Елены Алексеевны; кандидата медицинских наук, старшего научного сотрудника отдела научного проектирования и контролируемых клинических исследований, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачёва» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Москва – Смирновой Елены Юрьевны

Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что оппоненты являются известными специалистами в данной области и имеют публикации по теме диссертации в рецензируемых журналах.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Москва выбран в качестве ведущей организации в связи с тем, что данное учреждение известно своими достижениями в области патологическая анатомии, фармакология, клиническая фармакология и имеет ученых, являющихся безусловными специалистами по теме рассматриваемой диссертационной работы, а именно вопросами по разработке механизмов контроля канцерогенеза.

В связи с тем, что диссертация выполнена по двум специальностям 3.3.2. Патологическая анатомия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология в состав диссертационного совета с правом решающего голоса введены три доктора наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология : Журавлева Марина Владимировна – доктор медицинских наук, Лазарева Наталья Борисовна - доктор медицинских наук; Яковлев Сергей Владимирович - доктор медицинских наук, которые являются членами диссертационного совета ДСУ 208.001.20 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), приказ ректора № 0868/Р от 18.07.2022г.).

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

Проведено комплексное патологоанатомическое обоснование места и роли производного дигидроакридона – 9-аммоний-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-ОН L-2-гидрокси-бутандивата, как эффективной терапевтической стратегии контроля EGFR-опосредованного канцерогенеза.

Предложена органоидная трехмерная модель рака молочной железы и проведена патоморфологическая, иммуногистохимическая и молекулярно-биологическая валидация растущих органоидов, полученных из клеток протоковой карциномы молочной железы.

Установлено, что инкубация клеток EGFR-экспрессирующего рака желудка сопровождается развитием цитотоксического действия соединения ЛХТ-17-19 при увеличении его концентрации. При этом, молекулярной основой формирования фармакологической активности служит снижение внутриклеточной концентрации активной – фосфорилированной – формы рецепторной тирозинкиназы дикого типа в клетках опухоли. Наименее чувствительной к действию соединения была культура MKN1.

Показано на двухмерных и трехмерной культурах опухолевых клеток возможность контроля онкогенной экспрессии EGFR соединением дигидроакридона 9-аммоний-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-ОН L-2-гидроксibuтандиватом (ЛХТ-17-19). Инкубация органоидов 0,5-60,0 мкМ ЛХТ-17-19 сопровождалась не только ингибированием их роста и пролиферации, но и существенной циторедукцией

Продемонстрировано, что ксенографтная опухоль третьей генерации сохраняет морфологические, иммуногистохимические и молекулярные черты исходной опухоли легкого пациента, и также, как и исходная опухолевая ткань, несет активирующую мутацию – делецию в экзоне 19 гена EGFR (Del19).

Доказано, что соединения дигидроакридона 9- аммоний-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-ОН L-2-гидрокси-бутандивата (соединение ЛХТ-17-19), проявляет свойства фармакологического соединения молекулярно-направленного действия, эффективного в отношении EGFR-позитивных опухолей (аденокарциномы легкого, рака молочной железы) .

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

Была предложена трехмерная опухолеподобная органоидная модель EGFR-экспрессирующего рака молочной железы, которая может быть использована в качестве эффективной *ex vivo* трансляционной платформы для определения терапевтического потенциала новых молекул молекулярно-направленного типа действия при соблюдении ряда обязательных требований, в том числе, предварительной патоморфологической, иммунофенотипической и молекулярно-генетической валидации. Для персонализации молекулярно-

направленной терапии ингибиторами киназы EGFR, в том числе и ее мутантного варианта, возможно применение ксенографтной модели немелкоклеточного рака легкого (аденокарциномы легкого), воспроизводимой в организме иммунодефицитных мышей. При этом для молекулярно-морфологической валидации варианта опухоли необходимо выполнение одновременно определение иммунофенотипа по статусу EGFR и молекулярно-генетической детекции мутаций гена EGFR в образце третьей генерации ксенотрансплантата. Соединения дигидроакридона и, в частности, 9-аммоний-3,3-диметил-3,4- дигидроакридин-1(2H)-ОН L-2-гидроксидиват (соединение ЛХТ-17-19) может служить источником создания нового оригинального лекарственного препарата молекулярно-направленного типа действия для эффективного контроля EGFR-опосредованного канцерогенеза. Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ НШ-843.2022.3 «Разработка биологических *in vivo* платформ для изучения новых подходов к персонализированной терапии рака мочевого пузыря и немелкоклеточного рака легких» в рамках (Соглашения № 075-15-2022-842 от 12 мая 2022) и инновационной научной школы Сеченовского Университета по теме «Азотсодержащие гетероциклы в основе инновационной молекулярно-направленной терапии неоплазий: от молекулы к кандидату в лекарственное средство».

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:** материалы диссертации внедрены в учебный процесс кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) Акт № 257 от 15.05.2023.

В результате проведения исследований определено, что трехмерная опухолеподобная органоидная модель EGFR-экспрессирующего рака молочной железы может быть предложена в качестве эффективной *ex vivo* трансляционной платформы для определения терапевтического потенциала новых молекул молекулярно-направленного типа действия при соблюдении



ряда обязательных требований, в том числе, предварительной патоморфологической, иммунофенотипической и молекулярно-генетической валидации.

Установлено, для персонализации молекулярно-направленной терапии ингибиторами киназы EGFR, в том числе и ее мутантного варианта, возможно применение ксенографтной модели аденокарциномы легкого, воспроизводимой в организме иммунодефицитных гуманизированных мышей. Для молекулярно-морфологической валидации варианта опухоли необходимо выполнение одновременно определение иммунофенотипа по статусу EGFR и молекулярно-генетической детекции мутаций гена EGFR в образце третьей генерации ксенографта.

Полученные результаты о соединении 9-аммоний-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-один L-2-гидрокси-бутандиват (соединение ЛХТ-17-19) могут служить источником создания нового оригинального лекарственного препарата молекулярно-направленного типа действия для эффективного контроля EGFR-опосредованного канцерогенеза.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:** идея диссертационного исследования базируется на анализе специальной литературы, при котором обнаружены исследования о значении EGFR-мутаций в опухолевых тканях, применение таргетной терапии и их роли в отношении EGFR-позитивных опухолей.

Достоверность полученных результатов обусловлена проведением необходимого количества экспериментов *in vitro*, а также опытов на экспериментальных животных (мышях BALB/c nu/nu), позволивших получить репрезентативные результаты.

Теория диссертации построена на проверяемых фактах и согласуется с опубликованными данными по ее теме. Задачи работы поставлены адекватно, с применением современных методов статистической обработки материала и анализом современной российской и зарубежной научной литературы (167 источников, из них 7 отечественных и 160 зарубежных) по исследуемой научной проблеме. Используются современные методики сбора и обработки

исходной информации. Все исследования внесены в базу первичной документации, в которой полностью отражен объем проведенных исследований (экспериментальные, морфологические, иммуногистохимические, генетические), а также статистическая обработка данных. Выводы и предложения логично вытекают из содержания диссертации, отражают решение поставленных задач, научно аргументированы и имеют научно-практическую значимость.

Автореферат соответствует содержанию диссертации.

По результатам исследования автором опубликовано 13 работ, в том числе 5 научных статей в журналах, включенных в ВАК при Минобрнауки России, 4 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer), 1 иные публикации по результатам исследования, 3 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.(при совместных работах вклад автора является основным).

**Личный вклад соискателя состоит в том,** что автору принадлежит идея исследования и ее реализация на всех этапах. Научные результаты, обобщенные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно на базах кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского и Института клинической морфологии и цифровой патологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Автор обосновано и целенаправленно обозначил цель и задачи исследования, разработал и выполнил трудоемкий эксперимент по моделированию двухмерной клеточной и трехмерной органоидной моделях, воспроизведению ксенографтной модели и провел эксперимент по оценке применения ЛХТ-17-19 с позиций контроля киназного драйвера канцерогенеза. Вклад автора является определяющим в обсуждении результатов исследования, в научных публикациях и их внедрении в практику.

Диссертация охватывает основные вопросы, связанные с изучением действия нового вещества производного дигидроакридина, проявляющего свойства фармакологического соединения молекулярно-направленного действия, эффективного в отношении EGFR-позитивных опухолей, и соответствует критериям внутреннего единства, с наличием плана исследования, не противоречит методологической платформы, основной идейной линии, концептуальности и взаимосвязи выводов.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации и полностью соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденным приказом ректора от 06.06.2022 г. №0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

В ходе защиты диссертации оппонент Забозлаев Федор Георгиевич в рамках научной дискуссии задал вопросы о факторах, влияющих на создание ксенографтной опухоли, а так же о степени патоморфза, которого удалось добиться при применении соединения ЛХТ-17-19, на которые Епишкина А.А. дала исчерпывающие ответы, полностью удовлетворившие оппонента.

Оппонентом Сипровым Александром Владимировичем были заданы вопросы касательно преимуществ органоидной модели, определения острой токсичности экспериментального соединения и возможности развития резистентности к данному соединению, на которые Епишкина А.А. дала исчерпывающие ответы, полностью удовлетворившие оппонента.

На заседании 18 декабря 2023 года диссертационный совет принял решение: за решение научной задачи – патологоанатомическое обоснование возможности совершенствования терапевтических стратегий контроля EGFR-опосредованного канцерогенеза путем создания новых отечественных таргетных лекарственных средств – кандидатов в лекарственное средство, что

имеет важное значение для специальностей 3.3.2. Патологическая анатомия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология присвоить Епишкиной Анне Алексеевне ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования с использованием информационной системы электронного голосования, диссертационный совет в количестве 18 человек (15 человек - очно, 3 человека – дистанционно) присутствовавших на заседании, из них 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации (6 докторов наук по специальности 3.3.2. Патологическая анатомия и 3 доктора наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология), из 22 человек, входящих в состав совета, утвержденного приказом ректора, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за присуждение ученой степени - 18, против присуждения ученой степени - нет.

Председатель

диссертационного совета

Дыдыкин Сергей Сергеевич

Ученый секретарь

диссертационного совета

Тертычный Александр Семенович

«20» декабря 2023 года