

## «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 РАН



Д.В. РЕБРИКОВ

« 17 » 11 2023 г.

## О Т З Ы В

ведущей организации – федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России) – о научно-практической значимости диссертационной работы Епишкиной Анны Алексеевны «Поиск эффективных механизмов контроля EGFR-опосредованного канцерогенеза» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.2. Патологическая анатомия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

### Актуальность темы исследования

Изыскание эффективных способов сдерживания прогрессии злокачественных новообразований представляет собой комплексную и сложную мультидисциплинарную задачу. Её актуальность определяется тем, что в структуре смертности населения развитых стран онкологические

заболевания занимают второе-третье место, при этом основную значимость имеют наиболее агрессивные формы заболевания с высокой частотой метастазирования и рецидивирования с неудовлетворительными результатами применения классических химиотерапевтических препаратов; ранее выявление злокачественных опухолей на стадиях с относительно благоприятным клиническим прогнозом остается нерешенной проблемой.

Современные подходы к комплексному и комбинированному лечению злокачественных новообразований помимо проведения хирургических операций и применения лучевых методов, включают использование целого ряда противоопухолевых лекарственных средств – как цитотоксических и цитостатических препаратов, так и средств таргетного воздействия, эффективность которых базируется на понимании молекулярно-генетических механизмов роста и прогрессии и морфологических формах неоплазий. Все это определяет важность и необходимость изыскания новых подходов к контролю канцерогенеза.

В основе поиска должны лежать исследования, посвященные изучению ключевых сигнальных путей развития опухоли, изучение спектра, механизма антибластомного действия перспективных и надежных противоопухолевых лекарственных средств, применение которых в комплексных методах лечения сочетало бы в себе высокую эффективность и безопасность.

К таким направлениям поиска можно отнести EGFR-ассоциированный сигнальный путь, экспрессирующийся и задействованный в развитии и прогрессии широкого спектра опухолей. Однако, несмотря на значительные достижения последних лет, в этой области все еще сохраняется много нерешенных вопросов. Изложенными доводами руководствовалась Анна Алексеевна при выборе направления научного поиска и выполнении диссертационного проекта, что обуславливает его несомненную актуальность и своевременность.

## **Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства**

Настоящее диссертационное исследование выполнено при поддержке внутриуниверситетского гранта ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) для финансирования исследований научных школ, при частичной финансовой и методической поддержке Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (проект № 14.N08.11.084 «Доклинические исследования лекарственного средства, действующего на рецепторные тирозинкиназы ALK (киназа анапластической лимфомы) и Met, Бета-тубулин класс 3 (TUBB3), для лечения рака лёгких»), гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых кандидатов наук и докторов наук и государственной поддержки ведущих научных школ Российской Федерации НШ-843.2022.3.

### **Новизна исследования и полученных результатов**

Новизна исследования А.А. Епишкиной обусловлена следующим: автором впервые установлено, что метаболическая активность и пролиферация EGFR-экспрессирующих культур бластомы желудка AGS, Hs746T и MKN1 обусловлена внутриклеточным содержанием фосфорилированной (активной) формы рецепторной тирозинкиназы дикого типа, при этом ингибирование роста и гибель опухолевых клеток под действием нового отечественного соединения дигидроакридона ЛХТ-17-19 связано с высоким сродством молекулы к сайту связывания киназного домена фермента, подчиняется дозозависимой закономерности и обуславливает истощение внутриклеточного пула активированной формы EGFR.

В созданной диссертантом инновационной органоидной модели показано, что *ex vivo* транслокация опухолевых клеток гормонально-зависимого EGFR-экспрессирующего рака молочной железы сопровождается инверсией экспрессии эстрогеновых рецепторов, протекает по пути повышения злокачественности фенотипа опухоли без потери активности внутриклеточного драйверного киназного механизма, что, тем не менее не снижает чувствительности клеток формирующейся трехмерной опухолевой культуры к молекулярно-направленному циторедуктивному действию производного дигидроакридона ЛХТ-17-19.

А.А. Епишкиной установлено, что в результате перевивки образца EGFR-экспрессирующего немелкоклеточного рака легкого формируется патоморфологически и иммунофенотипически эквивалентный исходному ксенографт опухоли в организме иммунодефицитных мышей, курсовое воздействие на который соединением ЛХТ-17-19 приводит к торможению роста и метастазирования опухоли.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием комплекса адекватных современных методов патологической анатомии, экспериментальной и молекулярной фармакологии. В силу мультидисциплинарности решаемой научной проблемы к ответу на научные вопросы, сформулированные в задачах успешно привлечены методы молекулярной биологии, из которых обращают на себя внимание метод тканевой инженерии, примененный с успехом в частности для воспроизведения ксенографтной опухолевой системы, методы изучения экспрессии и количественного содержания сигнальных молекул и опухолевых маркеров в ткани неоплазии.

Объем проведенных исследований достаточен для получения объективных данных. Статистическая обработка полученных материалов

проведена с использованием современного пакета статистических программ для персонального компьютера. Полученные числовые данные корректно обработаны общепринятыми методами статистики, что позволяет считать результаты достоверными. Поставленные задачи решены полностью. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, основываются на достаточном количестве экспериментов и аргументировано доказываются соответствующими исследованиями. Выводы и положения диссертации обоснованы и логически вытекают из представленного материала. Практические рекомендации соответствуют содержанию работы и заслуживают одобрения.

### **Значимость результатов работы для науки и практики**

Результаты исследования А.А. Епишкиной носят как теоретический, так и практический характер. Полученные результаты обогащают современную науку представлениями о механизмах EGFR-опосредованного канцерогенеза. Предложенные *ex vivo* и *in vivo* платформы могут найти применение в дальнейших доклинических исследованиях с высоким трансляционным потенциалом.

Результаты работы используются в учебной и научной работе структурных подразделений ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), г. Москва, в учебной и исследовательской работе кафедры фундаментальной медицины ФГАОУ ВО НИЯУ МИФИ.

По теме диссертационного исследования опубликовано 13 работ, 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.

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Диссертантом был разработан дизайн и план исследования, проведены работы по культивированию и перевивке двухмерных и трехмерных клеточных культур. Автором проведены манипуляции с лабораторными животными и формированию ксенотрансплантатов. Самостоятельно проведено описание морфологических характеристик материнской и ксенографтной опухоли, а также изменений произошедших в результате патоморфоза на фоне экспериментальной терапии. Диссертант участвовала в написании научных публикаций по теме диссертационной работы.

### **Оформление и содержание диссертации**

Диссертационная работа Епишкиной Анны Алексеевны построена по традиционному плану, изложена на 125 страницах, иллюстрирована двадцатью четырьмя рисунками и двумя таблицами. Диссертационная работа содержит главы введение, «Литературный обзор», «Материалы и методы исследования», «Результаты собственных исследований», заключение и выводы. Список литературы содержит выходные данные 167 работ, из которых 7 работ отечественных и 160 зарубежных авторов. Диссертационная работа выстроена логично, написана хорошим научным языком.

Во введение приведены данные об актуальности и научной ценности работы, определены цели и задачи. С первых страниц диссертации отмечено хорошее владение материалом, изучаемой темы автором. Научная новизна исследования и положения выносимые на защиту сформулированы четко.

Глава 1 «Литературный обзор» приводит сведения о значении EGFR-мутаций в опухолевых тканях, показывает значимость данной мутации на влияние выживаемости пациентов. Дана оценка частоте метастазирования у

пациентов с мутацией EGFR. В данной главе так же поднимаются вопросы о применении таргетной терапии и ее роли в отношении EGFR-позитивных опухолей. Анализ данной главы показывает хорошее владение информацией по теме исследования диссертантом.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» выстроена грамотно, что позволяет оценить большой объем работы. Описаны методы по культивированию и перевивке двухмерных и трехмерных клеточных культур, а также методы получения ксенографта. Описаны методы по оценке жизнеспособности клеток в двух- и трехмерных клеточных структурах. Описаны патологоанатомические, иммуногистохимические и молекулярные методы валидации ксенографта. Фирмы производители для каждого антитела, клеточной линии, прибора и программного продукта указаны в необходимом объеме.

Главы 3 посвящена результатам собственных исследований, где автор демонстрирует анти-EGFR ингибиторного потенциала ЛХТ-17-19 в двух- и трехмерных культурах опухолевых клеток человека. Показывает патологоанатомическую и иммуногенетическую идентичность материнской опухолевой ткани и полученной ксенографтной опухоли. Автором продемонстрированы результаты противоопухолевого действия ЛХТ-17-19 на ксенографтной опухоли с оценкой медианы выживаемости, изменений размера опухолевого узла, количества метастазов, а также степенью лечебного патоморфоза.

«Заключение» написано лаконично и показывает хорошее владение диссертантом материалами своего научного труда.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

1. Учитывая несомненную практическую значимость выполненного Епишкиной А.А. исследования, применение основных выводов и положений работы можно рекомендовать к внедрению в научно-исследовательскую работу лабораторий, отделов, центров и кафедр, специализирующихся на

проведении исследований в области экспериментальной морфологии, патоморфологии и терапии опухолей, и, в частности, в работу лабораторий Института регенеративной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева, кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, кафедр патологической анатомии и фармакологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, кафедры фармакологии и клинической фармакологии, кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», кафедр нормальной и патологической анатомии; фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева», кафедр фармакологии и патологической анатомии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

2. Результаты проведенного диссертантом исследования могут быть рекомендованы к использованию при разработке образовательных программ, факультативных курсов и написании учебных пособий и методических рекомендаций для аспирантов, обучающихся по направлению подготовки «Фундаментальная медицина», профилю «Патологическая анатомия» и «Фармакология, клиническая фармакология», а также ординаторов.

### **Замечания**

В целом диссертация оставляет благоприятное впечатление, она написана хорошим языком и соответствует всем необходимым требованиям. Автором проделана большая работа, имеющая важное теоретическое и практическое значение. Обращает на себя внимание некоторая перегруженность литературного обзора и отдельные технические



неточности, не влияющие на общую значимость и масштаб проделанной работы. Принципиальных замечаний по работе нет.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

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 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.

Отзыв обсужден и утвержден на совместном заседании кафедр патологической анатомии и клинической патологической анатомии Педиатрического факультета и молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева Медико-биологического факультета федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный

исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 1 от  
«16» ноября 2023 г.).

Заведующий кафедрой патологической анатомии и клинической  
патологической анатомии Педиатрического факультета федерального  
государственного автономного образовательного учреждения высшего  
образования «Российский национальный исследовательский медицинский  
университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, доктор медицинских наук (3.3.2.), профессор,  
Заслуженный врач РФ

Елена Леонидовна Туманова

Заведующий кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии имени  
академика П.В. Сергеева Медико-биологического факультета Федерального  
государственного автономного образовательного учреждения высшего  
образования «Российский национальный исследовательский медицинский  
университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской  
Федерации, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук (3.3.6.),  
профессор

Николай Львович Шимановский

Подписи д.м.н., профессора Тумановой Е.Л. и д.м.н., чл.-корр. РАН,  
профессора Н.Л. Шимановского заверяю

Ученый секретарь ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»

Минздрава России, к.м.н, доцент

О.М. Демина

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего  
образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет  
имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Адрес: 127473, Москва, ул. Островитянова, д. 1;

Телефон: +7 (495) 434-03-29

E-mail: [rsmu@rsmu.ru](mailto:rsmu@rsmu.ru)