

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора медицинских наук, доцента, заместителя директора по научной работе научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой, профессора кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета послевузовского образования имени профессора Б.В. Афанасьева Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова Моисеева Ивана Сергеевича на диссертационную работу Куневича Евгения Олеговича на тему «Генетические и клинические маркеры прогноза и эффективности терапии у больных фолликулярной лимфомой», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. – гематология и переливание крови

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Актуальность диссертационного исследования обусловлена высокой частотой встречаемости и особенностями течения фолликулярной лимфомы (ФЛ). ФЛ представляет собой клonalное лимфопролиферативное новообразование, возникающее из клеток герминальных центров лимфатических фолликулов. В структуре неходжкинских лимфом ФЛ является второй по распространенности после диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы. Несмотря на индолентный характер течения и высокую продолжительность жизни у большинства пациентов, в 20-30% случаев отмечаются рецидивы и/или прогрессирование заболевания. Таким образом, выявление значимых прогностических факторов, ассоциированных с неблагоприятными исходами ФЛ, является одной из важнейших задач исследователей и клиницистов. Возможность правильной стратификации пациентов на группы риска позволит, с одной стороны, избежать избыточного токсичного лечения, повысить качество жизни, снизить нагрузку на систему здравоохранения, а с другой, выявить группу пациентов, нуждающихся в активном лечении и объективизировать назначение новых терапевтических средств, что в конечном итоге позволит улучшить показатели выживаемости.

Внедрение технологий секвенирования следующего поколения (NGS) позволило более подробно изучить особенности молекулярного патогенеза ФЛ и обнаружить новые прогностические маркеры. Так в клиническую практику недавно был внедрен прогностический индекс m7-FLIPI, учитывающий мутационный статус 7 генов, в том числе гена *EZH2*, мутации которого обуславливают благоприятный прогноз у пациентов с ФЛ. Учитывая

важную роль гена *EZH2* в патогенезе и прогнозе ФЛ в 2020 году FDA был одобрен специфический ингибитор *EZH2* у пациентов во второй и более линии терапии. В настоящее время проводятся исследования по изучению прогностической роли мутаций *EZH2* в зависимости от проводимой терапии.

Несмотря на значительный прогресс в изучении генетических маркеров и биологических факторов риска, не существует проверенных прогностических шкал, учитывающих как биологические, так и клинические параметры опухоли. Внедрение в рутинную клиническую практику таргетных препаратов требует идентификации генетических нарушений, основываясь на достижениях молекулярной биологии. Использование технологии NGS в диагностике и применение новых таргетных препаратов и их комбинаций способствует улучшению результатов лечения пациентов с ФЛ. Проведение комплексных исследований с использованием различных методов диагностики и прогнозирования течения болезни, ориентированных на достижение результативности и эффективности персонализированной таргетной терапии при ФЛ, имеет высокую актуальность в Российской Федерации.

Несмотря на значительный прогресс в изучении генетических маркеров и биологических факторов риска, до настоящего времени не существует проверенных прогностических шкал, учитывающих как биологические, так и клинические параметры опухоли. Автор подчеркивает актуальность продолжения поиска новых прогностических параметров и разработки систем стратификации пациентов с ФЛ.

Таким образом, диссертационное исследование на тему «Генетические и клинические маркеры прогноза и эффективности терапии у больных фолликулярной лимфомой» представляет собой важный вклад в развитие медицинской науки и может иметь практическое значение для врачей, занимающихся лечением данного заболевания.

### **Научная новизна результатов диссертационного исследования**

Впервые в проспективном исследовании разработана методика определения опухолевой мутационной нагрузки (TMB) на основании результатов таргентного секвенирования у пациентов с ФЛ, доказана ее прогностическая значимость. Показаны возможности применения анализа обогащения набора генов для изучения сигнальных клеточных путей вовлеченных в лимфомагенез и для проведения дифференциальной диагностики с учетом мутационного профиля пациента.

Также впервые на одной когорте пациентов проведена комплексная оценка генетических драйверов неблагоприятного прогноза. В

диссертационном исследовании изучена частота встречаемости мутаций гена *EZH2*, установлен благоприятный характер данной генетической аберрации относительно всех показателей выживаемости. Автором продемонстрировано, что пациенты с сочетанием перестроек генов *BCL2* и *BCL6* обладают достоверно худшими показателями выживаемости в сравнении с больными без данной ассоциации. Также продемонстрирована роль других мутаций, выявленных в результате секвенирования нового поколения. В диссертации представлены новые данные о влиянии генетических аберраций на результативность режимов иммунохимиотерапии в условиях генетического стратифицирования.

Предложен оригинальный способ оптимизации международной шкалы оценки риска FLIPI-2. Данная система после проверки на независимой выборке может потенциально стать инструментом, который лучше предсказывает прогноз в группе российских пациентов по сравнению с международной шкалой. Это позволит в будущем оптимизировать алгоритм терапии первой линии ФЛ.

### **Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов, практических рекомендаций**

Диссертационная работа Куневича Евгения Олеговича является оригинальным научным трудом, в котором последовательно решены поставленные научные задачи и полностью достигнута цель исследования – оптимизация стратификации и алгоритма лечения пациентов с фолликулярной лимфомой на основании оценки генетических и клинических факторов прогноза.

Степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным клиническим материалом и длительным периодом наблюдения. В исследование включены данные о 144 пациентах с морфологически подтвержденной ФЛ, имеющих показания для начала терапии. Медиана наблюдения за больными составила 34,3. В диссертационном исследовании использованы актуальные методы клинико-лабораторных исследований, современные молекулярно-генетические методы диагностики (FISH, секвенирование по Сэнгеру, NGS). Для статистической обработки результатов исследования использовались стандартные параметрические и непараметрические методики, а также различные виды многомерного статистического анализа данных. Проспективные клинические данные получены автором лично, что не вызывает сомнений, полученные результаты достоверны, выводы обоснованы. Научные положения и практические

рекомендации полностью отражают полученные результаты исследования, соответствуют целям и задачам исследования.

### **Значимость для науки и практики результатов диссертационного исследования**

Диссертационное исследование, проведенное Куневичем Евгением Олеговичем, имеет важное научно-практическое значение. Разработанная оригинальная методика расчета опухолевой мутационной нагрузки позволяет комплексно оценивать мутационную сигнатуру каждого пациента и важна в случае рецидива и/или прогрессирования заболевания. ТМВ также может использоваться как показатель, обуславливающий назначение некоторых таргетных препаратов, например, ингибиторов иммунных контрольных точек. В целом методика секвенирования следующего поколения изменила парадигму изучения онкогематологических новообразований, значительно ускорив процесс поиска новых мутаций, ассоциированных с патогенезом заболевания. Применение автором технологий NGS и основанного на результатах секвенирования анализа обогащения набора генов может помочь более детально изучить патологические клеточные процессы, происходящие в момент рецидива или прогрессии заболевания, что, несомненно, имеет большую теоретическую и практическую значимость.

С практической точки зрения имеют особую важность обновленные данные об эффективности поддерживающего лечения. Автором однозначно продемонстрировано преимущество проведения поддерживающей терапии анти-CD20 моноклональными антителами. Представлены данные о сравнительной эффективности основных режим иммунохимиотерапии первой линии, аргументированы случаи использования схемы R-CHOP вместо RB. Соискателем предложена новая прогностическая модель FLIPI-2 mod. для определения риска у пациентов с ФЛ. Предложенная модель характеризуется сравнительно высокой точностью и имеет прогностическую ценность в отношении всех показателей выживаемости. Важной особенностью предложенной модели является стратификация пациентов на две (вместо трех) группы риска, что исключает неопределенность в дальнейшей тактике лечения у пациентов с промежуточным прогнозом.

Главным итогом работы Куневича Евгения Олеговичем с точки зрения практической медицины является разработка алгоритма комплексной оценки риска и определения долгосрочного прогноза пациентов, что позволяет оптимизировать терапию в условиях появляющихся опций клеточной и иммунотерапии.

## **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационного исследования**

Результаты, полученные автором, являются новыми научными знаниями в области гематологии с перспективой их использования в научно-исследовательской работе и в медицинской образовательной сфере. Практические рекомендации достоверны, научно обоснованы и могут использовать в работе специализированных федеральных центров, практической работе гематологических и онкогематологических отделений многопрофильных медицинских учреждений.

## **Оценка содержания, степень завершенности и качество оформления диссертационного исследования**

Диссертационное исследование написано в традиционном стиле, состоит из введения, двух глав обзора литературы, характеристике исследуемого клинического материала, трех глав собственных результатов исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 22 источника на русском и 229 источников на иностранных языках. Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста, содержит 51 рисунок и 20 таблиц.

**Во введении** представлена актуальность, степень разработанности темы исследования, цель, задачи, научная новизна, научно-практическая ценность, методология и методы исследования, основные положения, степень достоверности и апробация результатов, внедрение результатов. Для достижения поставленной цели соискателем определены 5 задач, решение которых отражено в результатах собственных исследований.

**В первой главе** подробно охарактеризован молекулярный патогенез, представлены стандартные подходы к терапии ФЛ, особенно подробно отражены современные возможности таргетной и эпигенетической терапии рецидивов и прогрессирований ФЛ, включая данные многочисленных клинических испытаний, подтверждающие актуальность выбранной темы исследования, будущие направления в лечении ФЛ.

**Вторая глава** посвящена всесторонней оценке известных к настоящему времени предикторов неблагоприятного течения ФЛ. Автором подробно охарактеризованы в хронологическом порядке все используемые в клинической практике прогностические индексы ФЛ. Во второй части главы подробно описывается механизм эпигенетической регуляции транскрипции

генов, приводятся данные по частоте встречаемости мутаций гена *EZH2*, их прогностической роли и терапии пациентов с наличием данных мутаций.

**В третьей главе**, посвященной материалам и методам, подробно представлена клиническая характеристика включенных в исследование пациентов с ФЛ, кратко описаны лабораторные методы исследования. Автор дает полную характеристику применяемым в работе молекулярно-генетическим методам исследования.

**Четвертая глава** состоит из трех разделов. В первом разделе автор приводит анализ результатов FISH исследования аберраций генов *BCL2*, *BCL6*, *TP53*. Продемонстрировано, что сочетание аберраций генов *BCL2* и *BCL6* достоверно ухудшает прогноз у пациентов с ФЛ, а у больных с транслокации *t(14;18)* эффективность режима R-CHOP значимо выше, чем RB. Во втором разделе приводятся данные о частоте встречаемости мутаций гена *EZH2*, их прогностическом значении. Завершается глава анализом результатов NGS исследования. Автор приводит алгоритм расчета TMB, доказывает прогностическую значимость высокой мутационной нагрузки у пациентов с ФЛ, отдельно останавливается на изучении сигнальных клеточных путей, используя анализ обогащения набора генов.

**Пятая глава** посвящена изучению влияния клинических параметров на прогноз и анализу сравнительной эффективности основных индукционных программ терапии и поддерживающего лечения у пациентов с ФЛ. В первой части автором установлен новый прогностически значимый уровень бета-2-микроглобулина и на основании этого разработана модифицированная модель оценки риска FLIPI-2 mod. у пациентов с ФЛ.

**В шестой главе** автором кратко охарактеризованы клинические особенности течения и прогноза *BCL2*-негативной и *CD23*-позитивной ФЛ и на основании выявленных закономерностей в диссертационной работе приводится разработанный алгоритм терапии первой линии у некоморбидных пациентов с ФЛ II-IV стадии возрастом до 70 лет.

**В заключении** соискатель обобщает полученные результаты, сравнивает их с данными других исследований, подводит итог проделанной работе.

Представленные **выводы** соответствуют цели и задачам, отражают основные результаты диссертационного исследования.

**Практические рекомендации** логично вытекают из результатов выполненной научной работы и несомненно будут востребованы специалистами, занимающимися изучением ФЛ.

Отдельно представлены перспективы разработки данной темы. Выделенные перспективы направления также подтверждают важное научное

значение диссертационного исследования Куневича Евгения Олеговича для онкогематологии.

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертационного исследования. Оформление автореферата соответствует действующим требованиям.

### **Полнота изложения основных результатов диссертационной работы в научной печати**

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них две в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Основные положения выполненной работы доложены и обсуждены на конференциях различного уровня (городских, всероссийских, международных).

### **Замечания и вопросы по диссертационной работе**

Существенных замечаний по методологическим подходам, обоснованности выводов, научной новизне и практической значимости нет. Работа заслуживает положительной оценки.

1. Вами был проведен анализ главных компонент. Уточните, пожалуйста, какая доля пациентов в этом анализе не имела никаких негативных факторов риска, у какого процента пациентов генетические факторы риска совпадали с клиническими, а у какого процента имелись генетические факторы в отсутствие клинических?

2. В вашей работе наблюдался разброс аллельной частоты выявленных мутаций. При выявлении нескольких мутаций у одного пациента, какие мутации наблюдались в доминантном клоне, а какие были представлены минорными клонами?

3. В вашей выборке пациентов было более 1/3 пожилых пациентов и пациентов с кардиальной коморбидностью. Были ли случаи летальности, не связанные с прогрессией фолликулярной лимфомы, и как такие случаи учитывались в статистических расчетах выживаемости?

Вопросы, возникшие в процессе ознакомления с диссертационной работой, в целом носят дискуссионный характер, не снижают качество

исследований и не влияют на основные теоретические и практические результаты диссертации.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационное исследование Куневича Евгения Олеговича «Генетические и клинические маркеры прогноза и эффективности терапии у больных фолликулярной лимфомой», представленное к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови, является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научно-практическая задача по оптимизации стратификации и алгоритма лечения пациентов с фолликулярной лимфомой.

По своей актуальности, научной новизне, научной и практической значимости, объему выполненных исследований, достоверности полученных результатов, обоснованности выводов диссертационная работа Куневича Евгения Олеговича полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 года (в редакции № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 1168 от 01.10.2018, № 1539 11.09.2021), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

### **Официальный оппонент**

доктор медицинских наук, доцент,  
заместитель директора по научной работе  
«Научно-исследовательского института детской  
онкологии, гематологии и трансплантологии  
имени Р. М. Горбачевой» Первого Санкт-Петербургского  
государственного медицинского университета  
имени академика И.П. Павлова

Моисеев Иван Сергеевич

### **Официальный оппонент:**

Профессор кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета послевузовского образования имени профессора Б.В. Афанасьева,

Заместитель директора по научной работе научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова» Минздрава РФ,  
доктор медицинских наук

**Моисеев Иван Сергеевич**

Адрес учреждения: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

Тел: +7(812) 338 6265, e-mail: [bmt-director@1spbgu.ru](mailto:bmt-director@1spbgu.ru)

сайт <https://www.1spbgu.ru>

Подпись официального оппонента Моисеева И.С. заверяю:



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12. e-mail: [bmt-director@1spbgu.ru](mailto:bmt-director@1spbgu.ru)