

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, заведующего группой высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России Семочкина Сергея Вячеславовича на диссертационную работу Алексини Алексеевны Шатиловой на тему «Прогностическое значение мутаций генов эпигенетической регуляции (*DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2*, *ASXL1*) у пациентов с острым миелоидным лейкозом», представленную к официальной защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 – Гематология и переливание крови

Актуальность темы диссертационного исследования

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) – крайне гетерогенное заболевание, ассоциированное с широким спектром генетических и молекулярных аномалий. Распределение пациентов с учетом прогностически значимых мутаций на группы генетического риска является принципиальной составляющей в принятии терапевтических решений. Актуальными на сегодняшний день являются рекомендации Европейской сети по изучению лейкозов (ELN-2022), выделяющие благоприятную, промежуточную и неблагоприятную группы риска. При этом далеко не все обнаруживаемые при ОМЛ генетические аномалии включены в существующую данную модель в связи с ограниченным количеством исследований.

В среднем 70% пациентов с впервые выявленным ОМЛ достигают полной ремиссии благодаря использованию современных режимов терапии. С другой стороны остается когорта первично рефрактерных больных и у половины, достигших ремиссии, развивается рецидив заболевания. Выполнение трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в первой полной ремиссии позволяет значительно улучшить

отдаленные результаты. Согласно актуальным рекомендациям ELN-2022 и Национальным клиническим рекомендациям, показания к выполнению алло-ТГСК в первой полной ремиссии однозначны лишь для когорты пациентов с неблагоприятными генетическими аномалиями. Наиболее непростой в аспекте планирования стратегии терапии остается категория больных промежуточной группы генетического риска (ELN-2022).

Учитывая вышесказанное, можно заключить, что диссертационная работа Шатиловой Александры Алексеевны несомненно актуальна, так как нацелена на совершенствование текущей модели стратификации и, следовательно, тактики ведения пациентов с впервые выявленным ОМЛ. Выбор для изучения генов *DNMT3A*, *IDH1/2* и *ASXL1* выглядит рациональным, поскольку мутации эпигенетических модификаторов играют существенную роль в патогенезе ОМЛ, часто выявляются в дебюте заболевания, нередко кооперируясь с другими известными генетическими альтерациями.

Научная новизна результатов диссертационного исследования

В диссертационном исследовании Шатиловой А.А. получены новые данные по генетическому профилю ОМЛ с мутациями в генах эпигенетической регуляции. Выявлена частая кооперация с генами, кодирующими сигнальный путь RAS-МЕРК, другими модификаторами хроматина (*KMT2C/D*) и генами, регулирующими процессы репарации ДНК. Кроме того, выделены сопутствующие мутации, негативно влияющие на прогноз пациентов с аномалиями эпигенетических модификаторов – мутации генов *NRAS*, *KRAS* и *NF-1*. Впервые продемонстрирована взаимосвязь вероятности достижения полной ремиссии с общим количеством мутированных генов.

В ходе работы проведен детальный анализ прогностической роли мутаций в генах эпигенетической регуляции, результатом которого стало выделение определенных категорий пациентов, нуждающихся в выполнении молекулярно-генетического исследования с оценкой мутационного статуса

генов *DNMT3A*, *IDH1/2* и *ASXL1*. Впервые по результатам комплексного обследования выделена когорта «*FND*» (комбинации мутаций в трех генах – *FLT3* (ITD), *NPM1* и *DNMT3A* (R882)) с крайне неблагоприятными прогнозом.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов, практических рекомендаций

В настоящем исследовании ретроспективно проанализирована достаточная по объему выборка пациентов (n=147) с впервые выявленным ОМЛ. Репрезентативность анализируемой группы больных доказана результатами валидации системы ELN-2022 с сопоставимыми с общемировыми данными по прогнозу в зависимости от мутационного статуса генов *NPM1* и *FLT3* (ITD) и варианта индукционной химиотерапии.

Первичная верификация диагноза ОМЛ для всех включенных в исследование пациентов проводилась согласно актуальным критериям ВОЗ на основе морфологического, цитофлуориметрического, цитогенетического и молекулярно-генетического методов анализа. В ходе работы были применены высокочувствительные и современные методы молекулярной диагностики, в частности цифровая капельная ПЦР и высокопроизводительное секвенирование. Статистическая обработка данных проводилась с использованием методов непараметрического анализа, исходы оценивались как с помощью однофакторного, так и многофакторного анализа. Результаты исследования были представлены на важнейших отечественных и зарубежных медицинских конференциях. Достоверность полученных результатов и сформулированных выводов не вызывает сомнений.

Значимость для науки и практики результатов диссертационного исследования

Диссертационная работа Шатиловой А.А. имеет высокую теоретическую и практическую ценность. Получена информация по частоте встречаемости мутаций в генах эпигенетической регуляции у пациентов с

впервые выявленным ОМЛ, проживающих на территории Российской Федерации, на основании анализа образцов костного мозга больных из восьми регионов страны. Анализ генетического ландшафта пациентов с мутациями эпигенетических модификаторов подтверждает концепцию о выраженной генетической и молекулярной гетерогенности ОМЛ.

Полученные данные по негативному прогностическому значению сопутствующих мутаций в генах *NRAS/KRAS* и *NF-1*, а также по категориям пациентов, в которых мутации генов-эпигенетических регуляторов проявляют неблагоприятную прогностическую роль, позволяют сузить показания для проведения развернутого молекулярно-генетического анализа. В частности, оценка мутационного статуса генов *NRAS/KRAS* и *NF-1* полезна среди пациентов с уже выявленными мутациями генов *DNMT3A*, *IDH1/2* и *ASXL1*.

Детальное выделение прогностически неблагоприятных категорий больных в итоге позволит оптимизировать тактику терапии ОМЛ с уточнением показаний к выполнению алло-ТГСК в первой полной ремиссии.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационного исследования

Результаты исследования Шатиловой А.А. могут быть использованы в практике гематологических отделений, оказывающих помощь пациентам с ОМЛ, а также в рамках усовершенствования образовательных программ учреждений высшего образования. Рекомендовано применение полученных данных по неблагоприятной прогностической роли мутации R882 в гене *DNMT3A* у пациентов с нормальным кариотипом, мутациями гена *NPM1* и/или мутацией *FLT3-ITD*, а также кооперации «*FND*» в отборе пациентов на проведение алло-ТГСК в первой полной ремиссии. Для пациентов-некандидатов на проведение интенсивного лечения в случае выявления мутация генов *DNMT3A* или *IDH1/2* целесообразно использование венетоклакс-содержащих режимов терапии.

Полученные данные внедрены в практику лечебной работы отделения химиотерапии онкогематологических заболеваний и ТКМ №2 ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» и гематологического отделения ГАУЗ «Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко» (г. Улан-Удэ), а также в учебный процесс кафедры терапии ОНК «Институт медицины и наук о жизни (МЕДБИО)» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» и кафедры факультетской терапии с клиникой лечебного факультета ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова».

Оценка содержания, степень завершенности и качество оформления диссертационного исследования

Диссертационная работа построена по стандартному плану, оформлена в соответствии с актуальными требованиями ГОСТ и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, собственных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, представления перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы. Работа написана академическим и понятным языком, характеризуется логичностью и целостностью изложения. Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, содержит 20 таблиц и 37 рисунков.

Во **«Введении»** автором изложена актуальность выбранной темы исследования, научная новизна, сформулированы цель и задачи, а также ключевые положения, выносимые на защиту.

Глава **«Обзор литературы»** посвящена обобщению имеющихся данных по нарушениям регуляции эпигенетических процессов при ОМЛ с фокусом на мутации генов *DNMT3A*, *IDH1/2* и *ASXL1*. Детально описаны патогенетические механизмы вышеупомянутых мутаций и имеющиеся исследования, посвященные изучению их клинико-гематологических и эпидемиологических характеристик.

В главе **«Материалы и методы»** изложены критерии включения и характеристика пациентов. Приведено описание использованных методов

цитогенетического и молекулярного анализа, приведен перечень генов, включенных в панель для таргетного высокопроизводительного секвенирования с распределением по функциональным категориям.

Глава «**Результаты исследования**» содержит 13 разделов. В первых двух разделах приводятся данные по частоте встречаемости мутаций эпигенетических модификаторов в реальной клинической практике. В разделах 3.3-3.6 представлены данные по ассоциации мутаций в генах *IDH1/2* со старшим возрастом, клинико-гематологические характеристики ОМЛ с мутациями в генах *DNMT3A*, *IDH1/2* и *ASXL1*, а также наиболее часто детектируемые кооперации исследуемых мутаций с другими аномалиями. Разделы 3.7 и 3.8 посвящены результатам секвенирования нового поколения, оценена прогностическая роль выявления дополнительных однонуклеотидных замен. И, наконец, в разделах 3.9-3.13 проведен детальный анализ прогностического потенциала мутаций генов *DNMT3A*, *IDH1/2* и *ASXL1* в различных когортах пациентов с впервые выявленным ОМЛ, а также данные по анализу эффективности вариантов индукционной химиотерапии у пациентов с мутированным статусом исследуемых генов. В «**Заключении**» суммируются конечные данные в сравнении с литературными данными.

Выводы полностью соответствуют поставленным цели и задачам, логично следуют из результатов исследования. Практические рекомендации не противоречат полученным результатам, изложены лаконично и доступно. Автореферат соответствует содержанию диссертации, в нем в сжатой форме, корректно отражены все основные разделы работы, результаты и выводы.

Полнота изложения основных результатов диссертационной работы в научной печати

По теме диссертационного исследования опубликовано 20 печатных работ, из которых 6 – в Российских и Международных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание учёной степени кандидата

медицинских наук и цитируемых в базе Scopus. Публикации в полной мере отражают основные положения диссертации.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

Принципиальных замечаний и комментариев к представленной к рецензированию работе нет, диссертационное исследование Шатиловой А.А., однозначно, заслуживает положительной оценки. В порядке обсуждения позвольте задать Вам следующие вопросы:

1. Части пациентов вашего исследования получили алло-ТГСК. Учитывалась ли данная когорта при анализе показателей выживаемости и каковы были основные показания к выполнению алло-ТГСК? Принимались ли во внимание данные по мутационному статусу генов *DNMT3A*, *IDH1/2* и *ASXL1*?
2. Согласно полученным данным, пациенты с мутированным статусом генов *IDH1/2* имели лучшие показатели общей выживаемости, при отсутствии значимого преимущества в аспекте безрецидивной выживаемости. Какие могут быть объяснения данного расхождения?

Вопросы носят дискуссионный характер и не влияют на общее мнение о представленной диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационное исследование Шатиловой Александры Алексеевны «Прогностическое значение мутаций генов эпигенетической регуляции (*DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2*, *ASXL1*) у пациентов с острым миелоидным лейкозом», представленное к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови, является самостоятельной завершённой научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научно-практическая задача совершенствования модели стратификации пациентов с впервые выявленным ОМЛ на группы

генетического риска с учетом полученных данных по прогностическому потенциалу мутаций эпигенетических модификаторов.

По своей актуальности, научной новизне, научной и практической значимости, объему выполненных исследований, достоверности полученных результатов, обоснованности выводов диссертационная работа Шатиловой Александры Алексеевны полностью соответствует пунктам 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 года (с изменениями и дополнениями в редакции от 25 января 2024 года), 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.

Зав. группой высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, доктор медицинских наук (шифр 3.1.28 – гематология и переливание крови), профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Пирогова» Минздрава России

Семочкин С.В.

03.05.2024

Подпись Семочкина Сергея Вячеславовича заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ радиологии»
Минздрава России

Жарова Е.П.

125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3, тел./факс +7 (495) 945-80-20,
Email: mnioi@mail.ru <https://www.mnioi.nmicr.ru>