

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель начальника академии  
по научной работе

доктор медицинских наук, профессор

Е.В. Ивченко



«14»

2024 года

рег. № 4/16/

365

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации о научно-практической значимости диссертационной работы Шатиловой Александры Алексеевны на тему «Прогностическое значение мутаций генов эпигенетической регуляции (*DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2*, *ASXL1*) у пациентов с острым миелоидным лейкозом», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови в диссертационный совет 68.1.007.01 созданный при федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»

### Актуальность темы диссертационного исследования

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) является самым распространенным вариантом острых лейкозов среди взрослых. Для ОМЛ характерна бесконтрольная пролиферация клона миелоидных бластных клеток вследствие накопления соматических мутаций. Генетические аномалии являются ключевым звеном патогенеза ОМЛ, а их обнаружение в дебюте заболевания позволяет провести стратификацию пациентов на группы риска (модель Европейской сети по изучению лейкозов, European LeukemiaNet, ELN-2022) и определить тактику терапии. Для пациентов с ожидаемой вероятностью развития рецидива более 35-40%, согласно актуальным стандартам, рекомендовано выполнение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в первой полной ремиссии. В

данную категорию попадают больные неблагоприятной группы генетического риска, часть больных промежуточной группы генетического риска (ELN-2022), а также все случаи рецидивов ОМЛ. В когорте пациентов благоприятного генетического риска алло-ТГСК в первой полной ремиссии не является общепринятой тактикой, за исключением случаев персистенции минимальной определяемой болезни – динамического маркера оценки эффективности проведенной терапии. Перспективной отраслью исследований в настоящий момент считается поиск дополнительных стабильных биомаркеров прогноза, которые позволят оптимизировать текущую прогностическую модель. Расширение и совершенствование системы стратификации пациентов с впервые выявленным ОМЛ является актуальной научной задачей, решение которой имеет важное значение для современного здравоохранения, поскольку поможет своевременно выделить когорту пациентов из групп благоприятного и промежуточного риска, которым может быть целесообразна ранняя интенсификация терапии.

Эпигенетические аномалии при ОМЛ характеризуются aberrантными паттернами метилирования ДНК, нарушениями процессов ремоделирования хроматина и посттрансляционной модификации гистонов и проявляются в изменении экспрессии ключевых генов, ответственных за развитие и дифференцировку клеток-предшественниц гемопоэза. Мутации генов, кодирующих ключевые эпигенетические модификаторы, могут быть использованы не только в качестве дополнительных биомаркеров прогноза, но и как потенциальные мишени для таргетной терапии.

Диссертационное исследование Шатиловой Александры Алексеевны посвящено изучению мутаций в генах *DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2* и *ASXL1* у пациентов с впервые выявленным ОМЛ. Автор раскрывает не только особенности течения ОМЛ с мутациями в генах *DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2* и *ASXL1*, но также проводит детальный анализ генетического ландшафта пациентов с мутированным статусом исследуемых генов.

Обзор отечественной и зарубежной литературы не позволяет прийти к

однозначному мнению о прогностической роли вышеперечисленных мутаций, особенно при их сочетаниях с другими генетическими аномалиями. Исследование Шатиловой А.А. вносит ясность в данную актуальную научную задачу.

Тема представленного диссертационного исследования была утверждена на заседании ученого совета федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации от 17 апреля 2023 года (протокол №03) и соответствует избранной отрасли науки и практической деятельности, а область исследования соответствует специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

#### **Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В рассматриваемой диссертационной работе проведен одновременный анализ эпидемиологических, клинико-гематологических и молекулярных характеристик ОМЛ с мутациями в генах *DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2* или *ASXL1*.

Впервые по результатам секвенирования нового поколения детально проанализирован молекулярный ландшафт пациентов с мутированным статусом генов эпигенетической регуляции. Доказана взаимосвязь сочетаний мутаций эпигенетических модификаторов и мутаций в генах, участвующих в регуляции сигнального пути RAS-МЕРК, с неблагоприятным прогнозом (ухудшение общей выживаемости, снижение частоты достижения полных ремиссий). Помимо этого, в настоящем диссертационном исследовании подчеркнута негативная прогностическая роль общего количества мутированных генов: при одновременном выявлении мутаций в 9 и более генах (включая гены *DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2* и *ASXL1*) пациенты реже достигали полной ремиссии.

В работе Шатиловой А.А. впервые выделены конкретные категории пациентов, в которых мутации генов-эпигенетических модификаторов ассоциированы с неблагоприятными исходами. Так, мутация R882 в гене

*DNMT3A* играла роль негативного прогностического биомаркера в когорте пациентов с нормальным кариотипом, мутациями генов *NPM1* и/или *FLT3* (мутация ITD), благоприятной группы генетического риска (ELN-2022). Интересно, что мутации 12 экзона гена *ASXL1* проявляли негативное прогностическое влияние не только в общей когорте пациентов, но и в группе благоприятного генетического риска (ELN-2022).

Впервые выделена уникальная группа с тройным мутационным статусом («*FND*» - комбинация мутаций в генах *NPM1*, *FLT3* (ITD) и *DNMT3A* (R882)). Согласно результатам однофакторного и многофакторного анализа, когорта «*FND*» имеет крайне неблагоприятные показатели прогноза, а показатель отношения рисков сопоставим с таковым в группе пациентов с цитогенетическими абберациями высокого риска (ELN-2022).

Таким образом, полученные результаты, выводы и сформулированные рекомендации имеют высокую научную новизну, как в аспекте расширения знаний о молекулярной гетерогенности ОМЛ, так и в области совершенствования текущей модели стратификации пациентов на группы риска.

### **Практическая значимость полученных результатов**

Научно-практическая значимость проведенного Шатиловой А.А. исследования заключается в получении новых данных, подтверждающих биологическую гетерогенность ОМЛ и способствующих совершенствованию текущей системы стратификации пациентов на группы генетического риска с дальнейшей оптимизацией тактики ведения.

Ценными для практической медицины результатами являются выделенные Шатиловой А.А. когорты больных, которым целесообразно выполнение оценки мутационного статуса генов *DNMT3A* и *ASXL1* в дебюте заболевания – в частности, пациенты с нормальным кариотипом, мутациями генов *NPM1* и *FLT3* (ITD), благоприятной группы генетического риска (ELN-2022). Учитывая, что в настоящий момент пациенты с мутированным статусом гена *NPM1* и мутацией *FLT3*-ITD относятся к промежуточной группе

генетического риска (ELN-2022), полученные данные позволяют выделить пациентов данной когорты с ожидаемо худшими показателями общей и безрецидивной выживаемости. Применение полученных результатов в рутинной клинической практике врачей-гематологов будет способствовать совершенствованию существующих подходов к терапии пациентов с ОМЛ благоприятной и промежуточной групп генетического риска (ELN-2022).

В настоящей работе сформулированы рекомендации по выбору тактики ведения пациентов, которые не являются кандидатами на проведение интенсивного лечения, в частности алло-ТГСК. Полученные данные по преимуществам использования венетоклакс-содержащих режимов в данной когорте пациентов при выявлении мутаций генов *IDH1/2* или *DNMT3A* также имеют высокую практическую значимость в аспекте оптимизации выбора варианта индукционной терапии.

Значимость результатов исследования подтверждается и интересом медицинского сообщества к их публичному представлению в периодических изданиях, на научно-практических мероприятиях и успешным внедрением полученных данных и практических рекомендаций в деятельность гематологических отделений федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и Государственного автономного учреждения здравоохранения «Республиканская клиническая больница имени Н.А. Семашко», а также в учебный процесс кафедры терапии образовательного кластера «Институт медицины и наук о жизни (МЕДБИО)» федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» и кафедры факультетской терапии с клиникой лечебного факультета института медицинского образования федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Федерации.

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

Достоверность результатов исследования и обоснованность выводов подтверждается использованием достаточной по объему и репрезентативной выборки пациентов с впервые выявленным ОМЛ (147 человек). Включенные в анализ пациенты соответствуют спланированному дизайну исследования. Используемые методы молекулярной диагностики и статистического анализа позволяют считать полученные результаты корректными и обоснованными.

Исследование выполнено на высоком методическом уровне. Выносимые на защиту положения диссертации и сформулированные выводы аргументированы и полностью обоснованы содержанием работы, закономерно вытекают из полученных результатов, соответствуя поставленным цели и задачам.

По теме диссертационного исследования опубликовано 20 печатных работ, из которых 6 – в российских и международных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и цитируемых в базе Scopus. Содержание печатных работ соответствует теме диссертации.

### **Структура и содержание работы**

Диссертационная работа Шатиловой А.А. оформлена в соответствии с существующими требованиями, изложена на 154 страницах машинописного текста, содержит 20 таблиц и 37 рисунков. Список литературы содержит 216 источников (33 отечественных и 183 зарубежных авторов). Текст диссертации составлен традиционно и включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и список используемой литературы.

Во введении автором сформулированы цель и задачи исследования на основании обоснованной актуальности выбранной темы и степени ее

разработанности. Выделены основные результаты, определяющие научную новизну, теоретическую и практическую значимость, приведены положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы проведен детальный анализ доступных литературных данных по эпигенетическим нарушениям при ОМЛ и роли мутаций в генах *IDH1/2*, *DNMT3A* и *ASXL1*. В разделах, посвященных мутациям в отдельных генах, описан вклад мутантных белков в патогенез заболевания и приведены все имеющиеся работы по прогностическому потенциалу исследуемых генетических аномалий. Приведен мировой опыт применения новых методов молекулярной диагностики – цифровой капельной полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенирования нового поколения при онкогематологических заболеваниях, а также данные по использованию таргетной терапии у пациентов с мутациями эпигенетических модификаторов.

В главе материалы и методы отражена характеристика включенных в исследование пациентов, методы, использовавшиеся при первичной верификации диагноза и при оценке мутационного статуса генов *IDH1*, *IDH2*, *DNMT3A* и *ASXL1*. Детально описана интерпретация результатов цифровой капельной ПЦР и прямого секвенирования по Сэнгеру. Представлены панель генов, использованная при проведении таргетного секвенирования нового поколения и алгоритм биоинформатического анализа. В конце главы приведен перечень методов, использованных при статистической обработке полученных данных.

При изложении результатов исследования автор следовал поставленным задачам. Первостепенно были изложены результаты оценки частоты встречаемости исследуемых мутаций в группе пациентов с впервые выявленным ОМЛ. Далее автором были проанализированы особенности ОМЛ с мутациями эпигенетических модификаторов – ассоциация с возрастом и полом пациентов, лабораторно-гематологическими характеристиками, отличительным иммунофенотипом и генетическим профилем. В следующем разделе описаны результаты секвенирования нового поколения у пациентов с

мутациями генов эпигенетической регуляции, с последующим анализом прогностической роли выявленных генетических аномалий. В разделах 3.10-3.11 оценены показатели прогноза пациентов с впервые выявленным ОМЛ в зависимости от мутационного статуса генов *IDH1*, *IDH2*, *DNMT3A* и *ASXL1* и их сочетаний с другими хромосомными aberrациями и генными мутациями. В завершающем разделе приведены результаты многофакторного анализа с выделением ключевых факторов, влияющих на показатели общей и безрецидивной выживаемости пациентов.

В заключении приведено обобщение полученных данных и их сопоставление с исследованиями отечественных и зарубежных коллег.

Выводы и практические рекомендации обоснованы, соответствуют сформулированным цели и задачам, аргументированы полученными результатами.

Текст диссертации изложен лаконично и последовательно, отличается логичностью и научным стилем. Работа оформлена в соответствии с требованиями Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, хорошо иллюстрирована, практически не содержит стилистических погрешностей.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Учитывая несомненную научно-практическую значимость полученных в диссертационной работе результатов, целесообразно их использование как в практической деятельности профильных гематологических отделений, оказывающих помощь больным с ОМЛ, так и в рамках совершенствования программ последипломного образования.

Актуальность освещенной темы определяет необходимость продолжения исследований, направленных на изучение эпигенетических нарушений при ОМЛ. Так, интересным представляется анализ эффективности включения ингибитора *bcl-2* к стандартным режимам терапии у пациентов с мутациями генов *DNMT3A* или *IDH1/2*. Кроме того, полученные результаты



поднимают проблему принятия решения о выполнении алло-ТГСК в первой полной ремиссии у пациентов благоприятной и промежуточной групп риска. Для однозначного ответа на вопрос о преимуществах алло-ТГСК в данных категориях и в когорте «*FND*» необходимо проведение дальнейших исследований на больших когортах пациентов.

### **Замечания к работе**

Существенных замечаний к представленной диссертационной работе нет. Исследование Шатиловой А.А. заслуживает несомненной положительной оценки в связи с научной новизной и ценностью полученных результатов, сформулированных выводов и практических рекомендаций.

В качестве дискуссии предлагается ответить на следующий вопрос:

Как Вы можете объяснить различия полученных Вами результатов по благоприятному прогностическому значению мутаций генов *IDH1/2* в аспекте общей выживаемости с результатами других исследований, в частности Zarnegar-Lumley и соавт. (2023), в котором не было продемонстрировано значимых различий в показателях прогноза в зависимости от мутационного статуса генов *IDH1/2* и Chou и соавт. (2011), продемонстрировавших благоприятное прогностическое значение мутаций гена *IDH2*, но не *IDH1*?

### **Заключение**

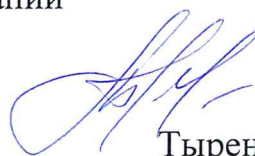
Диссертация Шатиловой Александры Алексеевны на тему «Прогностическое значение мутаций генов эпигенетической регуляции (*DNMT3A, IDH1, IDH2, ASXL1*) у пациентов с острым миелоидным лейкозом», выполненная в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации при научном руководстве кандидата медицинских наук Гиршовой Ларисы Леонидовны является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная научная задача необходимости совершенствования модели стратификации пациентов с впервые выявленным ОМЛ на группы риска с использованием

полученных данных по прогностическому потенциалу мутаций эпигенетических модификаторов.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований, практической значимости и достоверности полученных результатов представленная работа соответствует требованиям п. 9-14 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (действующая редакция), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам ее автор, Шатилова Алексина Алексеевна, заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Отзыв о научно-практической ценности диссертационной работы Шатиловой А.А. обсужден и утвержден на заседании кафедры факультетской терапии федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (протокол №12 от 30.04.2024 года).


Начальник кафедры факультетской терапии  
доктор медицинских наук, профессор  
(14.01.05 – кардиология)

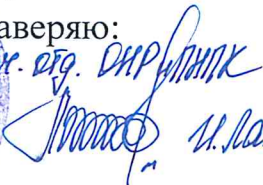


Тыренко Вадим Витальевич

«14» мая 2024 года

Подпись доктора медицинских наук, профессора Тыренко Вадима Витальевича заверяю:



*Врио зам. ст. дир. НИИ  
ММ-К И/С*  
 *И. Катышев*

Адрес: 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

Телефон: 7 (812) 667-71-18

Сайт: <http://vmeda.mil.ru>

Электронная почта: [vmeda-nio@mil.ru](mailto:vmeda-nio@mil.ru)