

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук Митиной Татьяны Алексеевны на диссертацию Салогуб Галины Николаевны на тему «Множественная миелома: молекулярно-генетические аспекты, лечение, прогноз», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.21 гематология и переливание крови

Актуальность темы диссертации

Множественная миелома (ММ) - заболевание, характеризующееся пролиферацией злокачественных плазматических клеток и приводящее к развитию связанных с заболеванием симптомов, таких как анемия, гиперкальциемия, поражение почек и костной системы. Это второе по распространенности гемопоэтическое злокачественное новообразование, в среднем с частотой встречаемости 4,5 на 100000 населения, которая увеличивается с возрастом, достигая пика около 65 лет. До настоящего времени ММ считалась неизлечимой болезнью, однако возможности терапии увеличились в последние десятилетия с появлением и использованием в клинической практике новых лекарственных препаратов, таких как ингибиторы протеасомы, иммуномодулирующие препараты, а также моноклональные антитела, которые позволяют увеличивать выживаемость, а также, что немаловажно, качество жизни этих пациентов. Другие факторы, которые способствуют улучшению результатов терапии, включают раннюю и более точную диагностику, достижения поддерживающей терапии, корректировку программ лечения с целью сведения к минимуму частоты и тяжести нежелательных явлений и улучшение стратификации риска.

Активный поиск факторов, определяющих ответ на проводимую терапию, привел к созданию Международной системы стадирования множественной миеломы, учитывающей простые и воспроизводимые лабораторные показатели, такие как уровень альбумина и β_2 -микроглобулина сыворотки крови (ISS). Внедрение цитогенетических методов привело к расширению факторов прогноза и модификации данной системы, в которую были дополнительно

введены уровень ЛДГ и генетические аберрации, выявленные стандартным кариотипированием и методом FISH (R-ISS). Несмотря на то, что основным показателем эффективности терапии в настоящее время принято считать достижение минимальной остаточной болезни, продолжаются исследования факторов прогноза, как легко воспроизводимых, так и более сложных в исполнении. Обсуждаются как экстрамедуллярные проявления заболевания и морфология опухоли, наличие циркулирующих плазматических клеток, результаты визуализирующих методов исследования, профиль экспрессии генов и многое другое, а также иммунофенотипические особенности миеломных клеток. Понятно, что изменение программ лечения будет требовать коррекции и факторов прогноза для индивидуального выбора терапии как первой, так и последующих линий. Несмотря на активное развитие новых технологий оценки глубины достигаемого ответа (минимальная остаточная болезнь, оцениваемая методом проточной цитометрии, позитронно-эмиссионной компьютерной томографией и пр.), в широкой клинической практике их использование ограничено.

В то же время, возможности широкого использования инновационных препаратов крайне ограничены, что, с одной стороны, поддерживает интерес к использованию «старых» препаратов, в том числе повторно, а с другой - требует отбора пациентов на основе более широкого набора прогностических факторов, что должно способствовать корректному выбору терапии применительно к каждому пациенту.

Ингибитор протеасомы I поколения бортезомиб превратился в основу терапии и продемонстрировал эффективность в клинических исследованиях с несколькими типами новых агентов, а также остается в составе комбинированной терапии до настоящего времени. Несмотря на длительный опыт его использования для лечения множественной миеломы, существует ограниченное число исследований, посвященных оценке терапии на основе этого препарата в реальной клинической практике и тем более оценки ряда

факторов прогноза, к которым относится и иммунофенотип.

Несмотря на наличие большого числа работ, посвященных исследованию прогностических факторов и методов лечения ММ, многие вопросы, касающиеся фенотипических особенностей опухолевой популяции при ММ, полученных с использованием проточной цитометрии, их связи с цитогенетическими и клиническими проявлениями заболевания, а также ответом на терапию бортезомиб-содержащими режимами полихимиотерапии остаются нерешенными, что обуславливает высокую актуальность данной работы.

Таким образом, актуальность диссертационной работы Салогуб Г.Н. не вызывает сомнений. Сформулированные автором цель и задачи исследования в полной мере отражают актуальность решаемой проблемы. Нельзя особо не выделить фрагменты исследования, посвященные сравнению эффективности различных линий терапии, прогностическому значению результатов проточной цитометрии.

Научная новизна исследования и полученных результатов диссертации

В результате проведенного комплексного клинического и молекулярно-генетического обследования и последующего длительного проспективного наблюдения больных с множественной миеломой установлены факторы неблагоприятного течения заболевания, такие как наличие плазмоцитом, почечная дисфункция, генетические aberrации высокого риска, высокая степень инфильтративного поражения костного мозга и особенности иммунофенотипа плазматических клеток.

Предложен расчет опухолевой нагрузки у больных множественной миеломой на основании числа плазматических клеток костного мозга по данным световой микроскопии и проточной цитометрии. У больных мужского пола, старше 63 лет, с низкими уровнями гемоглобина, тромбоцитов, высокими уровнями кальция, моноклонального белка сыворотки крови и плазмобластной морфологией плазматических клеток костного мозга чаще выявляется высокая

опухолевая нагрузка, которая ассоциируется с меньшей общей выживаемостью этих больных.

Впервые установлено, что у пациентов с множественной миеломой и генетической аберрацией $del(17p)$ вероятность наличия плазмоцитом в 5 раз выше, чем у больных с множественной миеломой без данной генетической аберрации.

Впервые определены влияющие на выживаемость пациентов пороговые значения количества плазматических клеток костного мозга, при которых увеличивается вероятность летальных исходов.

Получены новые данные об особенностях иммунофенотипа миеломных клеток у больных с различными клиническими и лабораторными характеристиками заболевания. Установлено, что общая и беспрогрессивная выживаемость больных множественной миеломой, эффективность терапии бортезомиб-содержащими режимами зависят от особенностей иммунофенотипа миеломных клеток. Для больных с иммунофенотипом плазматических клеток $CD45^-CD27^-CD56^+$ характерны наиболее тяжелые стадии заболевания на этапе диагностики и низкая общая выживаемость.

Впервые выявлено, что терапия с включением бортезомиба и аутологичной трансплантации стволовых клеток сопровождается изменениями фенотипа плазматических клеток костного мозга. К этим изменениям относятся приобретение ($CD45$, $CD19$) и потеря ($CD20$, $CD56$ и $CD117$) экспрессии антигенов, которые характеризуют популяцию нормальных плазматических клеток.

Впервые разработана прогностическая иммунофенотипическая шкала комплексной оценки прогностического риска.

Установлено, что терапия индукции бортезомиб-содержащими режимами химиотерапии и проведение аутологичной трансплантации стволовых клеток приводят к увеличению соотношения количества нормальных плазматических клеток к общему числу плазматических клеток костного мозга.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Проведенная работа расширила представление о патогенетических механизмах, определяющих течение множественной миеломы; помимо хорошо известных и используемых прогностических факторов доказано важное значение количества плазматических клеток в аспирате костного мозга по данным проточной цитометрии, а также фенотипических особенностей опухолевых клеток.

Работа имеет и большое практическое значение. В исследовании убедительно доказано, что у больных множественной миеломой, имеющих генетическую аберрацию *del(17p)*, для выявления плазмоцитом необходимо использовать современные визуализирующие методы исследования, включающие МРТ и ПЭТ-КТ, поскольку наличие этой генетической аберрации ассоциируется с увеличением вероятности экстрамедуллярных поражений, являющихся крайне негативным прогностическим признаком.

Кроме того, получены важные данные об особенностях иммунофенотипа миеломных клеток у больных с различными клиническими и лабораторными характеристиками заболевания и установлено их влияние на выживаемость при проведении терапии бортезомиб-содержащими режимами.

В проведенном исследовании обоснована целесообразность использования иммунофенотипической шкалы комплексной оценки прогностического риска у больных множественной миеломой для определения дополнительных факторов, определяющих прогноз заболевания.

Обоснованность и достоверность основных положений, результатов и выводов диссертации

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования объективны, подтверждены достоверными статистическими расчетами. Научные положения, выводы и практические рекомендации обоснованы и четко сформулированы. Полученные в процессе исследования клинические данные

обрабатывались с использованием программной системы STATISTICA for Windows (версия 10), которая позволяет выполнять все классические виды анализа по предельно широкому набору конкретных алгоритмов и методов, адекватных задачам исследования и специфике полученных сведений.

Массив исходных данных содержит более 112 исходных показателей, описывающих данные о состоянии пациентов: клинические характеристики, лабораторные и инструментальные показатели.

В период динамического наблюдения за больными проводилось контрольное обследование, которое включало в себя повторение 66 исходных показателей для оценки ответа на терапию и течения заболевания. Всего было проанализировано более 54 000 показателей.

Массив был подготовлен так, чтобы можно было сравнивать весь имеющийся набор сведений в анализируемых группах и подгруппах разного уровня и сопряжения. При возможности определения типа распределения нами использовались преимущественно непараметрические методы анализа. Характеристики выборок были представлены в виде среднего значения \pm ошибка среднего значения ($M \pm m$) или медианой значения и квартилями.

В соответствии с целями и задачами исследования, а также с учетом специфики анализируемых переменных выполнялись:

- построение и визуальный анализ графиков и диаграмм разброса данных;
- определение типов распределений данных;
- построение гистограмм разброса данных;
- расчет частоты таблиц как одномерных, так и многоуровневых;
- расчет элементарных статистик (средние значения, ошибки средних, тертили);
- построение и визуальный анализ корреляционных полей связи между анализируемыми параметрами, а также расчет корреляционных матриц на основе линейной корреляции и непараметрических методов;

- методы многофакторного анализа (логистическая регрессия, пропорциональная регрессионная модель Кокса).

Определение конечных временных точек при оценке показателей выживаемости проводилось в соответствии с рекомендациями Независимого наблюдательного комитета с помощью критериев Европейской группы по трансплантации крови и костного мозга, оценивалась выживаемость без прогрессирования (БПВ), общая выживаемость (ОВ), продолжительность (длительность) ответа (ДО) и/или время до последующей терапии.

Анализ частотных характеристик качественных показателей (пол, особенности патологии, виды ответов на терапию) проводился с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса (для малых групп), критерия Пирсона, критерия Фишера.

Сравнение изучаемых количественных параметров (возраст, клинические, биохимические и иммунологические характеристики) в исследуемых группах осуществлялось с использованием критериев Манна–Уитни, Колмогорова–Смирнова, медианного χ^2 и модуля ANOVA.

Принципиально важные пороговые значения таких показателей, как число плазматических клеток костного мозга по данным световой микроскопии и проточной цитометрии, получали с помощью метода построения классификационных деревьев. Отношения рисков (шансов) рассчитывались по стандартным формулам доказательной медицины.

Анализ ОВ и БПВ проводили с использованием метода Каплана–Майера. В качестве точки отсчета для вычисления ОВ и БПВ выбрали дату постановки диагноза ММ. Для оценки значимости ОВ и БПВ использовался метод Log-rank test. Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению

Диссертация выполнена в традиционном стиле, является полностью

завершенным научно-квалификационным трудом, содержит достаточный клинический материал. Работа изложена на 357 страницах машинописного текста, состоит из введения, 8 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка, включающего 25 отечественных и 572 зарубежных источника. Диссертация иллюстрирована 49 таблицами, 103 рисунками.

Во введении соискатель обосновывает актуальность исследования, демонстрируя как практическую, так и теоретическую значимость анализируемой проблемы, формулирует цель, задачи работы, перечисляет основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен обзор литературы по теме научного исследования. Автором проанализированы данные научной литературы, посвященные современному представлению о патогенезе множественной миеломы. Большое вниманиеделено молекулярно-генетическим событиям, приводящим к возникновению и развитию заболевания. Проанализированы результаты клинических исследований, а также результаты лечения миеломы в реальной клинической практике. Особое вниманиеделено анализу эффективности схем с включением ингибитора протеасом I поколения бортезомиба, как в 1й линии терапии, так и в рецидиве заболевания, у пациентов с острым почечным повреждением. Отдельно представлены результаты лечения пациентов в группе с использованием аутологичной трансплантации гемопоэтических клеток и в старшей возрастной группе без трансплантации. Проведен подробный анализ прогностических факторов и систем стадирования множественной миеломы, используемых и разрабатываемых в последнее время, в том числе иммунологических типов секреций, иммунофенотипических особенностей миеломных клеток, генетических aberrаций.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» содержит описание исследуемой когорты пациентов, дизайна исследования, использованных

методов диагностики, оценки эффективности терапии. Суммарно в диссертационное исследование было включено 218 пациентов с множественной миеломой: с впервые выявленным заболеванием, получившие лечение на основе бортезомиба в 1й линии терапии (115 пациентов), рецидивами/резистентной формой, получивших аналогичную терапию во 2-3й линиях (30 пациентов) и пациентов группы исторического контроля, которая не получила лечение протеасомным ингибитором (65 пациентов). Среднее время наблюдения за вошедшими во все группы больными составило 49,1 мес. (до 189,2 мес.). Разработанный дизайн исследования, выбранные методы позволили в полном объеме решить поставленные задачи. Формирование групп соответствует современным требованиям доказательной медицины. Изученные выборки репрезентативны, их объем достаточен для проведения статистического анализа. Автор подробно описывает примененные методы лабораторной диагностики, в том числе цитогенетического исследования и проточной цитометрии, а также методы визуализации. Описаны статистические методики, используемые при обработке результатов.

В главе 3 «Стандартная химиотерапия, терапия различными схемами химиотерапии на основе протеасомного ингибитора I поколения бортезомиба, аутологичная трансплантация стволовых клеток у больных множественной миеломой. Эффективность лечения» сравниваются результаты лечения групп пациентов с впервые выявленной множественной миеломы, рецидивом заболевания после стандартной терапии и получивших стандартное лечение. Подробно проанализированы длительность ответа на проводимую терапию, общая и беспрогрессивная выживаемость, значение достижения более глубокого ответа и эффективность различных схем химиотерапии на основе бортезомиба при длительных сроках наблюдения. Показана большая эффективность использования иммуномодулирующих препаратов для лечение рецидива заболевания по сравнению с повторным использованием схем на

основе бортезомиба. Подтверждено, что использование аутологичной трансплантации гемопоэтических клеток в 1-й линии терапии у больных миеломой приводит к наилучшим результатам при достижении индукционными режимами очень хорошего частичного ответа и более.

В главе 4 «Возраст, общесоматический статус и системы стадирования множественной миеломы» подтверждено, что возраст и продвинутые стадии заболевания отрицательно отражаются на результатах терапии.

Пятая глава «Иммунологические типы множественной миеломы, поражение почек и их влияние на эффективность терапии бортезомиб-содержащими режимами химиотерапии» посвящена оценке иммунологического типа заболевания. На основании оценки общего белка и электрофореза белков сыворотки крови 139 больных множественной миеломой моноклональная продукция была выявлена у подавляющего числа, однако, только при использовании всего спектра методов идентификации (иммунофиксация сыворотки крови и суточной мочи, определение уровня общих и свободных легких цепей иммуноглобулинов) только у 7,2% больных не было выявлено продукции моноклонального белка и эти больные были отнесены в группу «неизмеряемой» миеломы. Автором обращено внимание на то, что у части пациентов с верифицированным диагнозом (12,8%) соотношение свободных легких цепей иммуноглобулинов κ/λ было нормальным. Иммунологический тип секреции при проведении терапии индукции бортезомиб-содержащим режимами не оказывал влияния на общую и беспрогрессивную выживаемость пациентов, в то время как повышение уровня креатинина в дебюте заболевания отрицательно сказывалось на этих показателях. Число больных с уровнем креатинина $\geq 0,176$ ммоль/л увеличивалось по мере нарастания протеинурии.

В главе 6 «Цитогенетические характеристики больных множественной миеломой и эффективность терапии на основе бортезомиба и аутологичной трансплантации стволовых клеток» подробно проанализированы результаты,

цитогенетического исследования клеток костного мозга у 89 больных множественной миеломой. На клинических примерах продемонстрирована необходимость стандартного кариотипирования клеток костного мозга, а также изменение спектра генетических аберраций в рецидиве заболевания. Подробно проанализированы результаты терапии пациентов с изолированными генетическими аберрациями и различных групп цитогенетического риска в соответствии с классификациями mSMART 1.0 и mSMART 3.0. Показано, что генетические аберрации чаще выявлялись у пациентов с III стадией заболевания по системе стадирования ISS и при высоком содержании плазматических клеток в аспирате костного мозга по данным проточной цитометрии. Оценено влияние сочетанных генетических аберраций из разных групп цитогенетического риска, выделена группа double-hit варианта заболевания. Автор продемонстрировала значение аутологичной трансплантации стволовых клеток у пациентов различных групп. Следует отметить, что, по результатам автора, данный метод не улучшил показатели выживаемости пациентов без выявленных генетических изменений.

В главе 7 «Количество и иммунофенотипические характеристики плазматических клеток костного мозга у больных множественной миеломой, эффективность терапии бортезомиб-содержащими режимами» подробно проанализированы результаты иммунофенотипирования плазматических клеток костного мозга 137 больных с верифицированным диагнозом множественной миеломы. Показано значение определения числа плазматических клеток в аспирате костного мозга методом 5-цветной проточной цитометрии, как одного из важных прогностических факторов, отрицательно влияющих на результаты терапии в группе больных с их числом более 35%. Оценка всех поверхностных маркеров плазматических клеток (CD38, CD138, CD45, CD19, CD20, CD27, CD56, CD117) была проведена в дебюте заболевания у 79 больных, отмечены наиболее часто встречающиеся аберрантные фенотипы, на клиническом примере продемонстрировано значение определения

иммунофенотипа опухолевых клеток на этапе диагностики. Автор подробно описывает клинико-лабораторные, в том числе цитогенетические, особенности пациентов при экспрессии изучаемых маркеров. Отдельно анализируется выживаемость пациентов не только при изолированной, но и комбинированной экспрессии маркеров. Предложенная фенотипическая шкала комплексной оценки прогностического риска может учитываться при выборе терапии на основе протеасомного ингибитора I поколения бортезомиба. Отдельно соискателем анализируются изменения иммунофенотипа плазматических клеток на разных этапах заболевания, а также обращается внимание на увеличение популяции «нормальных» плазматических клеток после проведения индукции и трансплантации стволовых клеток.

В главе 8 «Клинические, молекулярно-генетические и иммунофенотипические предикторы эффективности терапии на основе бортезомиба больных множественной миеломой» на основании изучения всей базы данных по результатам многофакторного анализа определены молекулярно-генетические и иммунофенотипические предикторы эффективности терапии больных множественной миеломой на основе бортезомиба, к которым были отнесены стадия по международной системе стадирования, уровень свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови и количество трансформированных плазматических клеток в аспирате костного мозга по данным проточной цитометрии.

В главе «Заключение» соискатель резюмирует клинический материал, на основании полученных результатов формирует выводы и дает практические рекомендации. Выводы и практические рекомендации обоснованы статистическими расчетами, соответствуют поставленной цели и задачам исследования.

Работа написана литературным языком, ей присуща целостность и логическое единство. Качество изложения текстового и наглядного материала отличается научным подходом, логично и полноценно передает содержание

работы.

Принципиальных замечаний по оформлению диссертационной работы Салогуб Г.Н. нет.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

Автором опубликовано 39 печатных работ, в том числе 16 статей в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, которые в полной мере отражают основные положения диссертации и соответствуют требованиям, предъявляемым к диссертации.

Соответствие содержания автореферата основным идеям и выводам диссертации

В автореферате в сжатой форме отражены основные результаты исследования, обоснованы ключевые положения и выводы работы. Содержание автореферата соответствует сути диссертационного исследования. Автореферат написан хорошим литературным языком, легко читается.

Заключение

Диссертация Салогуб Галины Николаевны на тему «Множественная миелома: молекулярно-генетические аспекты, лечение, прогноз», является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная современная научная проблема по совершенствованию прогностических критериев ответа на терапию бортезомиб-содержащими режимами химиотерапии на основе комплексной оценки различных факторов прогноза, в том числе молекулярно-биологических, что имеет важное научно-практическое значение для онкогематологии.

По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Салогуб Галины Николаевны на тему «Множественная миелома:

молекулярно-генетические аспекты, лечение, прогноз соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно пп. 9-14 «Положение о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакции от 11.09.2021), а ее автор Салогуб Галина Николаевна, достоин присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.21 - гематология и переливание крови.

Заведующий отделением клинической
гематологии и иммунотерапии, в.н.с.,
заведующий кафедрой гематологии и
клинической трансфузиологии факультета
усовершенствования врачей
ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского,
д.м.н (шифр 14.01.21—гематология и переливание
крови)

Митина Т.А.

Подпись д.м.н. Митиной Т.А. заверяю
Ученый секретарь ГБУЗ МО МОНИКИ
им. М.Ф. Владимирского,
д.м.н., профессор

Берестень Н.Ф.



29.11.2021г.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2.

Тел.: 8-(495)-681-73-81

www.monikiweb.ru