

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

руководителя лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России» доктора биологических наук на диссертационную работу Дарьи Александровны Королевой на тему «Молекулярно-генетическая диагностика и терапия прогностически неблагоприятных форм лимфомы из клеток мантии», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – Гематология и переливание крови.

Актуальность темы диссертации

Лимфома из клеток мантии (ЛКМ) – агрессивная В-клеточная лимфатическая опухоль - характеризуется крайне гетерогенным клиническим ответом на различные варианты терапии. Временной диапазон выживаемости колеблется от многолетнего наблюдения без лечения до нескольких месяцев, даже при применении интенсивных программ химиотерапии. Гетерогенность ответа обусловлена в первую очередь биологическими особенностями опухоли. На сегодняшний день с целью оценки прогноза в основном применяются клиничко-лабораторные характеристики больных, а молекулярно-генетические данные в большинстве случаев изучаются ретроспективно при анализе неудач терапии. Наиболее изученным фактором резистентности является обнаружение мутации в гене *TP53*, анализ на наличие которой также проводится в основном ретроспективно в рефрактерных случаях ЛКМ.

Кроме того, в настоящее время не существует единого дифференцированного протокола диагностики и терапии больных ЛКМ, разработанного с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли и не достигнуто консенсуса в сроках выполнения и методах оценки минимальной остаточной болезни.

На сегодняшний день мало изучена роль трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в первой линии терапии у больных из группы высокого риска. Кроме того, согласно официальным зарубежным и российским рекомендациям выполнение алло-ТГСК рекомендовано только в рецидиве ЛКМ после предшествующей трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Потенциальное значение применения таргетных препаратов до и после алло-ТГСК также практически не освещается в литературе.

Поиск новых неблагоприятных факторов, влияющих на прогноз и выживаемость больных ЛКМ, методом таргетного секвенирования, является крайне перспективной опцией, позволяющей не только объяснить новые механизмы резистентности, но и

осуществлять индивидуальный подход к терапии с контролем минимальной остаточной болезни.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Цели, задачи данного исследования сформированы на основании изучения большого объема литературы. Степень достоверности результатов исследования определяется достаточным объемом проведенного обследования (40 пациентов ЛКМ) с использованием достоверных методов исследования и статистической обработкой полученных данных. Научные положения диссертационной работы базируются на существующих обоснованных данных. Выводы и практические рекомендации диссертации являются полностью обоснованными и соответствуют содержанию, целям и задачам работы.

Научная новизна

Впервые разработан и внедрен в клиническую практику новый протокол диагностики и терапии больных ЛКМ, объединяющий все существующие на сегодняшний день эффективные опции для лечения ЛКМ, основанный на детекции молекулярно-генетических факторов неблагоприятного прогноза, в первую очередь, на наличии мутаций в гене *TP53*. Определена не только частота обнаружения мутаций в гене *TP53* у больных ЛКМ, но и проведен подробный анализ всех клинико-лабораторных характеристик данной группы больных.

Обоснованной опцией являлось уменьшение количества курсов химиотерапии на этапе индукции до 4-х, что позволило снизить токсичность при сохранении высокой эффективности протокола, что подтверждается результатами оценки минимальной остаточной болезни. Применение комплексного мониторинга минимальной остаточной болезни на всех этапах лечения является крайне перспективным подходом.

Рациональность расширения показаний для алло-ТГСК и внедрение ее в первую линию терапии у больных из группы высокого риска по результатам проведенного научного исследования также не вызывает сомнений.

Кроме того, особенностью данной работы является представление уникальных данных таргетного секвенирования, которое было выполнено у 9 больных ЛКМ в рамках единого протокола. Полученные данные позволили продемонстрировать перспективные возможности таргетного секвенирования в диагностике, подходах к терапии и расширить понимание о биологических особенностях опухоли и новых механизмов резистентности.

Научно-практическая ценность работы

Научно-практическая ценность работы не вызывает сомнений. Ранняя детекция молекулярно-генетических факторов неблагоприятного прогноза позволяет своевременно выявлять больных из группы высокого риска с целью определения тактики терапии. Разработка и внедрение нового проспективного протокола «ЛКМ-2016», основанного исследовании молекулярно-генетических характеристик, расширение показаний для таргетной и клеточной терапии, являются ключевыми аспектами данной работы. Полученные первые уникальные данные таргетного секвенирования могут служить плацдармом для дальнейших исследований ЛКМ.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликовано 2 печатные работы в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, а также 8 тезисных сообщений. Основные положения диссертации докладывались на научных конференциях, в том числе зарубежных в виде постерных докладов.

Структура, содержание и оценка диссертационной работы

Диссертация Королевой Дарьи Александровны написана хорошим литературным языком, по традиционному плану, изложена на 199 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, изложения материалов и методов, результатов и обсуждения собственных результатов, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего ссылки на 181 источник, в том числе отечественных авторов. Работа проиллюстрирована 23 таблицами и 8 рисунками, достоверность которых не вызывает сомнений, в которых наглядно отражены данные по результатам проведенного исследования.

Во введении автор обосновывает актуальность избранной темы, четко формулирует цели и задачи исследования, определяет практическую значимость работы.

В обзоре литературы автор подробно описывает клинические особенности, характер течения и патогенез ЛКМ, оценивает основные прогностические факторы, проводит анализ основных подходов лечения от стандартных схем химиотерапии до современных возможностей клеточной терапии. Отдельные главы посвящены анализу молекулярно-генетических факторов неблагоприятного прогноза, особо акцентируя внимание на клиническое значение наличия мутаций в гене *TP53* у больных ЛКМ.

Достаточно большой, возможно избыточный, объем литературного обзора обоснован революционными изменениями, не только в терапии, но и в возможностях диагностики и в современных аспектах патогенеза и биологии ЛКМ, произошедших за последние десятилетия. Однако, проведенный анализ позволяет убедительно продемонстрировать целесообразность изучения и ранней детекции молекулярно-генетических неблагоприятных факторов прогноза и дифференцированного подхода к терапии в разных группах больных.

В главе 2, материалы и методы, подробно представлен дизайн протокола обследования и терапии больных ЛКМ, включенных в исследование. Четкость и полнота описания методов демонстрируют профессиональное владение автором лабораторными методиками. Используемые методы логично изложены и включают молекулярно-генетический анализ на наличие мутаций в гене *TP53* и иммуногистохимический анализ на выявление гиперэкспрессии белка P53. Работа соискателя выполнена на достаточном клиническом материале. Для анализа данных применены стандартные статистические методы.

Анализ полученных собственных данных изложен в главе 3. Автором представлены подробные клиничко-лабораторные характеристики всех больных, включенных в исследование, проведен отдельный детальный разбор и сравнительный анализ вариантов и исходов терапии у больных в группах стандартного и высокого риска.

По результатам однофакторного анализа в общей группе статистически достоверно доказано влияние наличия мутации в гене *TP53* на прогноз и выживаемость больных ЛКМ, как единственного независимого фактора. В группе больных с мутациями в гене *TP53* проведен множественный сравнительный анализ, демонстрирующий взаимосвязь других факторов с обнаружением патогенных мутаций (комплексный кариотип, бластоидный морфологический вариант, наличие делеции 17p13, тяжелый соматический статус). В *TP53*-негативной группе больных по результатам однофакторного анализа доказано значение обнаружения комплексного кариотипа, как единственного независимого фактора неблагоприятного прогноза в этой группе больных. Таким образом, на основании проведенной научно-исследовательской работы выделены 3 группы больных ЛКМ, требующих дифференцированного подхода к терапии.

Показана высокая эффективность применения нового разработанного протокола «ЛКМ-2016» у больных в группе стандартного риска, позволяющая достичь показателей 2-летней бессобытийной и общей выживаемости 100%, с контролем минимальной остаточной болезни, оцениваемой комплексно на всех этапах терапии. Продемонстрирована роль алло-ТГСК, выполненной в первой линии у больных с

наличием мутаций в гене *TP53* и в раннем рецидиве заболевания у больных с наличием комплексного кариотипа, что позволяет достичь показателей 2-летней общей выживаемости 64,3% и 90% соответственно.

Кроме того, отражены перспективы применения таргетного секвенирования у больных ЛКМ, позволяющие в дальнейшем оценивать и выявлять новые молекулярные маркеры неблагоприятного прогноза (мутации в генах *MLL2*, *CHEK1/2*, делеции *CDKN2A/B* и пр.).

Автором суммированы полученные данные, выводы логично соответствуют целям и задачам исследования, сформированы четкие практические рекомендации.

В заключении сформулированы основные результаты полученных исследований.

Обоснованность положений диссертации

Достоверность и обоснованность выводов, представленных в диссертационной работе Королевой Дарьи Александровны, не вызывает сомнений, так как они основаны на результатах, полученных на достаточном объеме материала. Содержание автореферата отражает основные положения диссертации. Существенных замечаний по методологии, обоснованности выводов, научной новизне и практической значимости нет, однако, есть замечание редакционного характера: название белка P53 согласно международным стандартам следует писать с заглавной буквы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Д.А. Королевой на тему «Молекулярно-генетическая диагностика и терапия прогностически неблагоприятных форм лимфомы из клеток мантии», выполненная под руководством д.м.н. Звонкова Евгения Евгеньевича и д.б.н. Сударикова Андрея Борисовича, представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, в которой приводится решение актуальной научно-практической задачи, имеющей существенное значение для клинической гематологии. По своей актуальности, научной значимости и практической ценности полученных результатов, диссертационная работа соответствует всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 года (в редакции постановлений Правительства РФ №335 от 21 апреля 2016 года, №748 от 02 августа 2016 года, №650 от 29 мая 2017 года, №1024 от 28 августа 2017 года и №1168 от 01 октября 2018 года «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемых к диссертациям на

соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Официальный оппонент

Доктор биологических наук,

Руководитель лаборатории молекулярной генетики

ФБГУ «Российский научно-исследовательский институт

гематологии и трансфузиологии ФМБА России»

Специальность «Гематология и переливание крови» (14.01.21)

Мартынкевич И. С.

Подпись Мартынкевич Ирины Степановны заверяю:

Ученый секретарь

ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России

Д-р мед. наук



Павлова И.Е.

19 апреля 2021 года

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Российский научно-исследовательский институт

гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»

191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-ая Советская, д.16, тел. +7(812)717-07-97;

e-mail: mis2907@mail.ru,

сайт: www.bloodscience.ru