

## ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора медицинских наук, заведующего группой высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России профессора кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии ИМД ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Семочкина Сергея Вячеславовича на диссертационную работу Кашлаковой Анастасии Игоревны на тему «Изучение молекулярно-генетического профиля кроветворных клеток у пациентов с острыми миелоидными лейкозами», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. «Гематология и переливание крови»

### Актуальность темы исследования

Современные клинические рекомендации по лечению острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) предполагают разделение пациентов по группам прогноза, в зависимости от исходных генетических характеристик опухоли, при этом учитываются не только хромосомные aberrации, но и мутации генов.

Изучению молекулярно-генетического профиля ОМЛ посвящено большое число печатных работ. Одними из ключевых исследований в этой области стали проект The Cancer Genome Atlas (2013) и большое исследование German–Austrian AML Study Group (Paraemmanuil E., et al. 2016). В указанных работах проанализировали огромный пласт данных наглядно демонстрирующий несомненный факт, ОМЛ – это крайне разнородная группа заболеваний. При ОМЛ идентифицировано более 70 мутированных генов, а также показано, что более 85% пациентов имеют сразу несколько генетических нарушений. Сочетания мутаций у индивидуального пациента определяет генетический профиль заболевания и возможный прогноз.

Особое место в изучении генетики ОМЛ занимает феномен клонального

кроветворения (КК). Известно, что КК встречается и у здоровых людей, однако, сопряжено с повышенным риском развития злокачественных новообразований системы крови. Считается, что появление мутаций генов, ассоциированных с КК, является ранним событием в лейкозогенезе. Наиболее часто мутированными генами при ОМЛ, ассоциированными с КК, являются гены *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*. Данные о прогностической значимости этих мутаций противоречивы. Особый интерес представляет влияние отдельных мутаций на прогноз в комбинации с другими генетическими нарушениями. В контексте персонализированного подхода к лечению ОМЛ, основанного в том числе на оценке минимальной остаточной болезни (МОБ), актуальной научной задачей является также динамическое изучение генетического ландшафта ОМЛ и сопоставление полученных данных с результатами исследования МОБ статуса больных на протяжении процесса терапии.

Решение поставленных научных задач имеет важное прикладное значение, представленное в диссертационной работе Кашлаковой А.И. посвященной исследованию молекулярно-генетического профиля кроветворных клеток у больных ОМЛ несомненно является актуальным.

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

Приведённые автором научные положения и сделанные выводы являются обоснованными, полностью отражают суть и значимость выполненной работы. Диссертационное исследование включает достаточное число пациентов (n=67), выполнено с использованием комплекса современных методов клинической лабораторной диагностики, включая стандартное цитогенетическое исследование, FISH, иммунофенотипирование методом многоцветной проточной цитометрии и методы молекулярного анализа, в частности, высокопроизводительное секвенирование. Тщательный анализ и качественная статистическая обработка клинических и лабораторных данных не позволяют сомневаться в достоверности полученных результатов.

Материалы исследования были представлены на Российских и международных научных конференциях в виде тезисных сообщения, устных и постерных докладов.

### **Достоверность и новизна результатов и научных положений, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа Кашлаковой Анастасии Игоревны посвящена изучению молекулярно-генетических характеристик опухоли у пациентов с ОМЛ, их изменению на разных этапах терапии и сопоставлению полученных данных с клиренсом МОБ. Все пациенты получали лечение в рамках единого протокола Российской исследовательской группы. Было показано, что при исчезновении в процессе лечения одной и более из исходных генетических мутаций, вероятность развития рецидива на сроке наблюдения 2 года была значимо меньше. Данное положение оказалось справедливо не только при включении в анализ «драйверных» генетических мутаций, но и мутаций генов, ассоциированных с КК.

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

Несмотря на появление новых таргетных препаратов для лечения пациентов с ОМЛ, основным методом лечения у этих пациентов по-прежнему остаётся химиотерапия. В этих условиях крайне важно наличие единого терапевтического протокола, базирующегося, с одной стороны, на испытанных схемах терапии, с другой – на дифференцированном подходе к лечению. Протокол Российской исследовательской группы, в рамках которого получали лечение пациенты, включённые в диссертационное исследование, показал высокую эффективность. Хотя достоверных различий в показателях выживаемости у пациентов, в зависимости от наличия тех или иных генетических маркеров, обнаружено не было, с учётом высокой трансплантационной активности (трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток выполнена 65,6% пациентов) выбранный

протокол позволил добиться показателей выживаемости, сопоставимых с таковыми в общей популяции пациентов с ОМЛ. Также соискателем было наглядно продемонстрировано, что персистенция мутаций генов, ассоциированных с КК, может обуславливать повышенный риск развития рецидива, что диктует необходимость комплексной оценки опухолевого клиренса на всех этапах лечения.

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

По теме диссертационной работы опубликовано 5 работ в журналах, рекомендованных перечнем ВАК Министерства образования и науки РФ, а также 15 тезисных сообщений, из которых 7 – в англоязычных сборниках конференций.

### **Оценка структуры и содержания работы**

Диссертация построена по классическому плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа проиллюстрирована 25 рисунками, содержит 25 таблиц и 5 приложений. Список литературы содержит 154 литературных источника: 5 отечественных и 149 зарубежных.

Во введении представлена актуальность темы, степень ее разработанности, логично сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

В обзоре литературы подробно описаны существующие классификации острых миелоидных лейкозов, приведены современные концепции лейкемогенеза, литературные сведения о наиболее значимых генетических мутациях, характерных для острых миелоидных лейкозов, разъяснены суть феномена клонального кроветворения и его значение при развитии лейкозов, охарактеризованы ключевые терапевтические схемы при лечении пациентов с

острыми миелоидными лейкозами, обозначена значимость отслеживания клиренса минимальной остаточной болезни в процессе лечения.

В разделе «Материалы и методы» приведены характеристики пациентов, включённых в исследование, описан протокол Российской исследовательской группы (протокол «ОМЛ-21»), представлен дизайн диссертационного исследования, подробно описаны методы молекулярно-генетического анализа, использовавшиеся в работе. Также описаны методы статистического анализа, использовавшиеся в работе.

В разделе «Результаты» представлены результаты лечения у пациентов, включённых в исследование, приведены результаты комплексной оценки молекулярно-генетических нарушений у пациентов с острыми миелоидными лейкозами, получавших программное лечение по единому протоколу Российской исследовательской группы, на разных этапах терапии, описаны прогностическая значимость всех выявленных нарушений, их связь с развитием рецидива. Выполнено сопоставление полученных данных с клиренсом минимальной остаточной болезни, исследованной методом иммунофенотипирования. В частности, диссертантом показано, что факторами, связанными с персистенцией МОБ после 2 курсов противоопухолевой терапии наличие мутаций генов *DNMT3A*, *NPM1* и возраст. Медиана возраста у пациентов с персистенцией МОБ была выше (42,5 против 36 лет). В группе пациентов с МОБ+ исходные значения VAF мутаций гена *DNMT3A* были выше, чем в случае МОБ-. Самыми частыми в дебюте заболевания были мутации в генах *NPM1* и *FLT3-ITD*. Наличие мутаций *FLT3-ITD* чаще ассоциировалось с инициальным гиперлейкоцитозом. В работе не было выявлено молекулярных предикторов нейрорлейкемии.

Заключение и выводы, сформулированные автором диссертационной работы, отражают основные результаты выполненной работы, соответствуют цели и поставленным задачам. Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне, оформлена в соответствии с существующими требованиями к научным квалификационным работам на соискание учёной

степени кандидата наук, стилистически выверена, написана ясным научным языком. Автореферат в полной мере отражает основные результаты исследования. Замечаний к работе нет.

В порядке дискуссии хотелось бы задать автору два вопроса:

1. В своей работе вы не выявили в рецидиве ОМЛ появления впервые возникших мутаций *FLT3-ITD*. Вместе с тем хорошо известно, что *FLT3<sup>mut</sup>* может появиться на любом этапе течения ОМЛ, в том числе у пациентов исходно без указанной мутации и всегда подчеркивается необходимость повторного тестирования не только в дебюте заболевания, но и при каждом рецидиве. Вашу находку можно объяснить ограниченность выборки или есть другое обоснование?
2. Проводя анализ мутаций в генах, определяющих КК неопределенного потенциала (*DNMT3A*, *TET2* и *ASXL1*), прослеживается ли какая-то возрастная зависимость в подгруппе пациентов с данными мутациями поскольку это примерно половина популяции (53%) и сравнить 2 группы вполне возможно. Имеет ли практическое исследование генов КК в плане выбора вариантов таргетной терапии поскольку, возможно, это пациенты с отличающимся биологическим поведением ОМЛ?

## **Заключение**

Диссертационная работа Кашлаковой Анастасии Игоревны «Изучение молекулярно-генетического профиля кроветворных клеток у пациентов с острыми миелоидными лейкозами», выполненная под руководством доктора медицинских наук Паровичниковой Елены Николаевны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. «Гематология и переливание крови», является законченной научно-квалификационной работой, в которой решается актуальная научно-практическая задача по планированию лечения у пациентов с острыми миелоидными лейкозами, в зависимости от молекулярно-генетического профиля заболевания. Диссертационное исследование полностью

соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями и дополнениями в редакции от 16.10.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор – Кашлакова Анастасия Игоревна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. «Гематология и переливание крови».

**Официальный оппонент:**

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. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Семочкин С.В.

26.05.2025г.

**Подпись Семочкина Сергея Вячеславовича заверяю:**

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, к.б.н.



Жарова Е.П.

ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России

Юридический адрес: 249036, Калужская обл., г. Обнинск, ул. Королева, 4

Фактический адрес: 125284, г. Москва, 2-ой Боткинский проезд, 3

Тел./факс: +7 (495) 945-80-20, e-mail: mnioi@mail.ru

<https://www.mnioi.nmicr.ru>