

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
д.м.н., профессор, академик РАН



Стилиди И.С.

« » 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической значимости диссертационной работы Котовой Екатерины Сергеевны на тему: «Полиморфизмы генов *TPMT*, *NUDT15* и особенности метаболизма 6-меркаптопурина у взрослых больных Rh-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Актуальность темы выполненной работы

Включение в химиотерапевтические программы лечения как у детей, так и у взрослых больных Rh-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами (ОЛЛ/ЛБЛ) 6-меркаптопурина подтверждено его эффективностью, несмотря на высокую частоту диагностики нежелательных лекарственных реакций (цитопении, диспепсия, лихорадка и другие). С внедрением в клиническую практику фармакогенетического тестирования стало возможным выявить группу больных, которая наиболее подвержена развитию осложнений, связанных с лечением. В литературе представлено достаточное число публикаций, посвященных изучению полиморфизмов генов, кодирующих ключевые ферменты метаболизма 6-меркаптопурина. Среди них особое внимание уделяют аллельным вариантам генов – тиопурин-S-метилтрансферазы (*TPMT*) и Nudix гидролазы 15 (*NUDT15*). Известно, что их наличие ассоциировано со снижением ферментативной активности одноименных энзимов и, как следствие этого, с увеличением вероятности развития миелотоксичности. В литературе представлены противоречивые данные о предиктивном значении полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15* у больных, получающих терапию 6-меркаптопурином. Большинство из опубликованных данных по

этой теме были получены в детской когорте больных ОЛЛ/ЛБЛ, лечение которым проводили по разным химиотерапевтическим протоколам. При обобщении вышесказанного не вызывает сомнений актуальность диссертационной работы Котовой Екатерины Сергеевны, посвященной изучению значения полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15* у взрослых больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ при неинтенсивном, но постоянном цитостатическом воздействии (протокол ОЛЛ-2016).

Новизна исследований и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором диссертационной работы впервые в России было проведено исследование по сравнению профиля токсичности 6-меркаптопурина у взрослых больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ как с полиморфизмами, так и с «диким» типом генов *TPMT*, *NUDT15*, получающих лечение по протоколу ОЛЛ-2016.

При выполнении диссертационной работы было показано, что лейкоцитопения у взрослых больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ является наиболее часто развивающимся осложнением на всех этапах терапии по протоколу ОЛЛ-2016. Следовательно, доказана необходимость выполнения исследования по выявлению полиморфизмов генов *TPMT*, *NUDT15* у больных, получающих терапию 6-меркаптопурином, вне зависимости от интенсивности химиотерапевтического воздействия.

У 16,67 % (15 из 90) взрослых больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ, получающих лечение по протоколу ОЛЛ-2016, были выявлены полиморфизмы генов *TPMT*, *NUDT15*. Показано, что у группы больных с аллельными вариантами исследуемых генов накопление дозы 6-меркаптопурина после 100 дня терапии происходит менее интенсивно по сравнению с группой больных с «диким» типом генов *TPMT*, *NUDT15* ($p < 0,0001$). При анализе токсичности, четкой закономерности развития определённых осложнений на всех этапах лечения по протоколу ОЛЛ-2016 у больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ в зависимости от мутационного статуса исследуемых генов получено не было. Обращает внимание и фундаментальность диссертационной работы, которая подтверждается выполнением исследования по определению концентраций метаболитов 6-меркаптопурина, с которыми ассоциированы как терапевтические свойства препарата (6-тиогуаниновые нуклеотиды), так и гепатотоксичность (6-метилмеркаптопурин). Было показано, что только значения концентраций 6-метилмеркаптопурина у взрослых больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ различаются в зависимости от мутационного статуса гена *TPMT* и коррелируют со значениями таких показателей как аланинаминотрансфераза и аспаратаминотрансфераза ($p < 0,05$). В мультивариантном анализе было подтверждено,

что полиморфизмы генов *TPMT*, *NUDT15* не является фактором неблагоприятного прогноза у взрослых больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ.

Практическая значимость для науки и практики

Диссертационная работа Котовой Екатерины Сергеевны несомненно имеет научную и практическую значимость.

В ходе работы были внедрены в клиническую практику исследования по выявлению полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15* методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции в реальном времени и определению концентраций метаболитов 6-меркаптопурина (6-тиогуаниновые нуклеотиды, 6-метилмеркаптопурин) с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Автором впервые было выполнено исследование по изучению частоты встречаемости полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15* у взрослых больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ при лечении по протоколу ОЛЛ-2016.

Впервые, у взрослых больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ в зависимости от мутационного статуса исследуемых полиморфизмов генов, был произведен анализ: расчета «полученной» дозы 6-меркаптопурина на разных этапах терапии при лечении по протоколу ОЛЛ-2016; сравнения частоты развития гематологической и негематологической токсичности; сравнения эффективности лечения по протоколу ОЛЛ-2016.

Автором было продемонстрировано, что для прогнозирования развития гепатотоксичности может выполняться исследование по определению концентрации 6-метилмеркаптопурина, а для оценки приверженности больного к лечению – 6 – тиогуаниновых нуклеотидов, что, безусловно, имеет важное практическое значение.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные в диссертационной работе результаты и выводы могут быть использованы в практической деятельности гематологических стационаров, в научно-исследовательской работе, в учебном процессе медицинских университетов, институтов усовершенствования врачей. Результаты диссертационной работы могут послужить основанием для дальнейших исследований как по гематологии, так и клинической фармакологии.

Личный вклад автора

Автор лично принимал участие в постановке цели и задачи исследования, осуществляла ведение больных, включенных в исследование. Автор принимала участие в выполнении лабораторной части работы на всех этапах анализа совместно с сотрудниками лабораторий. Результаты диссертационной работы на разных этапах выполнения были представлены в виде публикаций, тезисов, постерных и устных докладов на конференциях, конгрессах, симпозиумах.

Структура, содержание и оценка диссертационной работы

Диссертационная работа построена по традиционному плану, изложена на 169 страницах машинописного текста, иллюстрирована 8 рисунками и 36 таблицами. Библиографический указатель состоит из 287 источников: отечественных – 12 и 275 зарубежных. Работа характеризуется логичностью построения, четкостью изложения.

Обзор литературы включает подробное и структурированное описание ключевых особенностей всех вариантов ОЛЛ/ЛБЛ согласно классификации Всемирной организации здравоохранения. Достаточно большая часть обзора литературы посвящена описанию препаратов, которые включены в химиотерапевтические протоколы лечения больных ОЛЛ/ЛБЛ. Отмечен логичный и обоснованный переход к подробному изложению о полиморфизмах генов *TPMT* и *NUDT15*.

В главе «Материалы и методы» четко описаны: критерии включения больных в исследование; особенности расчета дозы 6-меркаптопурина при лечении по протоколу ОЛЛ-2016; перечень осложнений и критерии оценки токсичности. Автором подробно описана лабораторная часть работы: исследование по определению полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15* было выполнено методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции в реальном времени, а также секвенированием по методу Сэнгера, с целью подтверждения полученных результатов; определение концентраций метаболитов 6-меркаптопурина (6-метилмеркаптопурин, 6-тиогуаниновые нуклеотиды) выполнено методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программного обеспечения SAS 9.4.

В главе 3, посвященной результатам исследования и их обсуждению, Котовой Е.С. в наглядной и доступной форме представлены полученные данные.

Заключения и выводы диссертационной работы отражают ключевые результаты выполненного исследования.

Практические рекомендации полностью основаны на полученных результатах данного анализа.

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 18 работ, из них 5 статей, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Российской Федерации.

Недостатки по содержанию и оформлению работы

Работа заслуживает положительной оценки. Отмечена ее высокая научно-практическая значимость, как для врачей клинической практики, так и для дальнейших фундаментальных исследований. Обоснованность и достоверность сформулированных в диссертации научных положений и выводов не вызывает сомнений. Существенных замечаний по поставленным целям и задачам, выбору методических подходов и обоснованности представленных автором выводов и положений нет.

Заключение

Диссертация Котовой Екатерины Сергеевны на тему: «Полиморфизмы генов *TPMT*, *NUDT15* и особенности метаболизма 6-меркаптопурина у взрослых больных Rh-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решается актуальная и важная научно-практическая задача.

Основные научные положения и практические рекомендации диссертационного исследования четко аргументированы, обоснованы и достоверны. Несомненна значимость полученных выводов и положений, выносимых на защиту.

Диссертационная работа Котовой Екатерины Сергеевны на тему: «Полиморфизмы генов *TPMT*, *NUDT15* и особенности метаболизма 6-меркаптопурина у взрослых больных Rh-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение научной задачи – проведена оценка полиморфизмов генов *TPMT*, *NUDT15* у взрослых больных Rh-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами, имеющей существенное значение для развития гематологии.

Таким образом, представленная диссертационная работа Котовой Екатерины Сергеевны, по своей актуальности, научной новизне, практической значимости и

достоверности полученных результатов, полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016г. №335, от 20 марта 2021г. №426, от 11 сентября 2021г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Отзыв на диссертационную работу Котовой Е.С. обсужден и одобрен на заседании отделения детской онкологии и гематологии (химиотерапия гемобластозов) №1 НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (протокол №3 от «25» апреля 2023 г.).

Заведующий отделением детской онкологии и гематологии
(химиотерапия гемобластозов) №1 НИИ детской онкологии и гематологии
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,

доктор медицинских наук

«26» 04 2023 г.

Подпись д.м.н. Валиева Т.Т. «заверяю»

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
кандидат медицинских наук

Валиев Т.Т.



Кубасова И.Ю.

Сведения об организации: федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, 24

Телефон: +7 (499) 324-24-24

Электронная почта: info@ronc.ru

Официальный сайт: <https://www.ronc.ru/>