

ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора биологических наук, руководителя лаборатории молекулярной генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России» Мартынкевич Ирины Степановны на диссертационную работу Зарубиной Ксении Игоревны на тему «Молекулярно-генетические маркеры эффективности химиотерапевтического воздействия у больных острыми лимфобластными лейкозами», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – Гематология и переливание крови.

Актуальность темы диссертации

Гетерогенность В-клеточных острых лимфобластных лейкозов (В-ОЛЛ) на молекулярном уровне отражает многообразие патогенетических механизмов опухолевого процесса, что в свою очередь обуславливает особенности клинического течения, различия в ответе на применяемую терапию. Высокая частота развития рецидивов при В-ОЛЛ взрослых диктует необходимость поиска молекулярных маркеров неблагоприятного прогноза для своевременного определения показаний к трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) и возможности применения таргетного воздействия.

Очевидно, что тема работы и цели исследования являются актуальными как для практической, так и для фундаментальной гематологии.

В настоящее время накоплено большое количество данных о распространенности, заболеваемости, принципах диагностики и лечения больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ). Генетические нарушения, детектируемые методами кариотипирования, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), а также различными вариантами ПЦР и секвенирования нуклеиновых кислот позволяют разделить ОЛЛ на четко установленные, прогностически значимые генетические подтипы, которые используются для стратификации риска и классификации.

Успехи терапии позволили существенно изменить продолжительность и качество жизни больных ОЛЛ и даже добиваться их излечения. Однако существует проблема развития резистентности и прогрессии заболевания. Проводятся исследования по изучению молекулярно-генетических основ ОЛЛ, прогноза эффективности таргетной терапии на основании биологических характеристик

опухоли и понимания молекулярно-биологических механизмов развития резистентности лечения.

В данной работе проведена оценка влияния различных мутационных изменений на эффективность химиотерапии больных ОЛЛ по протоколам ОЛЛ-2009, ОЛЛ-2012 и ОЛЛ-2016.

Научная новизна основных положений и выводов

Было показано, что активирующие мутации генов сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK (*NRAS*, *KRAS*) у взрослых больных *de novo* Ph-негативным В-клеточным ОЛЛ ассоциированы с более быстрым клиренсом опухолевых клеток и с более высокой летальностью, связанной с терапией.

Особенностью данной работы является динамическая оценка мутационных изменений у больных ОЛЛ до цитостатической терапии и в момент развития рецидива. По данным секвенирования клинического экзема, было показано, что на момент диагностики в опухоли присутствует несколько клонов и во время рецидива происходит смена опухолевых клонов – мажорный клон, диагностированный в дебюте заболевания, становится минорным в рецидиве.

Более того, установлено, что, основная часть мутаций гена *TP53* у взрослых больных В-клеточным ОЛЛ носит герминальный характер и ассоциирована с синдромом Ли-Фраумени. Выявлены две новые мутации гена *TP53*: инсерция (с.847insCCC) и делеция (с.397_412del16).

Научно-практическая ценность работы

Научно-практическая ценность работы не вызывает сомнения, так как выявлены дополнительные диагностические критерии, а именно мутации генов *NRAS* и *KRAS*, которые позволяют осуществлять выбор прецизионного противоопухолевого воздействия с включением таргетных препаратов (ингибиторов тирозинкиназ) у взрослых больных как с *de novo* Ph-негативными В-клеточными ОЛЛ, так и с рефрактерными формами и рецидивами.

Детекция мутаций гена *TP53* у взрослых больных *de novo* ОЛЛ позволяет быстро и четко определять показания к выполнению алло-ТГСК, а также выделять носителей герминальных мутаций (врожденный синдром Ли-Фраумени).

Проведенное фундаментальное исследование направлено на изучение биологии ОЛЛ и в значительной степени расширяет понимание патогенеза ОЛЛ и его гетерогенности.

Объем и структура диссертации

Диссертация написана по общепринятому плану объемом в 172 страницы, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и

обсуждения собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 349 источников, в том числе отечественных авторов, и приложений. Работа проиллюстрирована 21 рисунком и 17 таблицами, достоверность которых не подлежит сомнению, в которых наглядно представлены данные по результатам всех этапов исследования.

Во введении автор обосновывает актуальность избранной темы, формулирует цель и задачи исследования, определяет характер работы.

В обзоре литературы автор описывает молекулярно-генетические нарушения при В- и Т-клеточных острых лимфобластных лейкозах/лимфомах. Автор детально повествует о молекулярных характеристиках опухоли, принципах терапии как *de novo* так и рецидивов ОЛЛ. С помощью обзора литературы автору удалось хорошо мотивировать свои исследования.

Вторая глава, посвященная материалам и методам, использованным в работе, состоит из описания инструментальных и лабораторных, использованных в данной работе. В главе присутствует детальное описание больных. Автор использовал практически весь доступный арсенал существующих методов исследования. Работа сделана на очень высоком методическом уровне.

Результаты представлены детально. Обсуждение полученных результатов проведено адекватно, с приведением большого числа литературных данных.

Автором показано, что мутации в генах сигнальных каскадов RAS/RAF/MEK/ERK (*KRAS*, *NRAS*) у больных *de novo* Ph-негативными В-клеточными ОЛЛ ассоциированы с ранней летальностью, связанной с терапией ($p=0,008$). Важно отметить, что детекция мутаций генов *NRAS* и *KRAS* методом секвенирования по Сэнгеру является крайне важным подходом, так как позволяет быстро выявить дополнительные молекулярные маркеры у взрослых больных *de novo* Ph-негативными В-клеточными ОЛЛ, необходимые для выбора оптимального лечения с включением таргетных (ингибиторов тирозинкиназ) и иммунных препаратов (блинатумомаб).

В ходе исследования был выявлен важный и интересный факт. Мутации гена *TP53* обнаруживались, главным образом, у больных В-клеточным ОЛЛ (11,2 %). Все выявленные мутации клональны и основная их часть у больных В-клеточным ОЛЛ носит герминальный характер и ассоциирована с синдромом Ли-Фраумени.

Заключение кратко суммирует полученные результаты.

Выводы в сжатом виде демонстрируют основные достижения автора, они обоснованы и достоверны.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Зарубиной Ксении Игоревны на тему «Молекулярно-генетические маркеры эффективности химиотерапевтического воздействия у больных острыми лимфобластными лейкозами», представленная на

соискание ученой степени кандидата медицинских наук, представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, в которой, решается актуальная для гематологии научно-практическая задача.

По своей актуальности, уровню проведенных исследований, научной и практической ценности полученных результатов, диссертационная работа полностью соответствует 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»), предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, а ее автор заслуживает искомой 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.

14 апреля 2021 года