

ОТЗЫВ ОППОНЕНТА

кандидата медицинских наук, заведующего отделом клеточной и иммунной терапии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации Алешиной Ольги Александровны на диссертационную работу Гурьевой Оксаны Дмитриевны «Прогнозирование эффективности и безопасности терапии метотрексатом на основе фармакогенетического тестирования при остром лимфобластном лейкозе у детей», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки).

Актуальность темы диссертации

Наиболее распространенным вариантом лейкоза у детей является острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), успехи в терапии которого в виде многолетних полных ремиссий и выздоровления достигают 90,7%. При этом отмечается значительная межиндивидуальная вариабельность в отношении лекарственной токсичности и исходов заболевания, зависящая от полиморфизмов в генах-кандидатах, что определяет роль фармакогенетики (ФГ) в оптимизации лечения ОЛЛ. Несмотря на разнообразие протоколов лечения ОЛЛ у детей, одним из основных компонентов терапии является метотрексат (МТХ), вводимый в высоких дозах (HD-МТХ > 1г/м²). Сложные комбинации химиопрепаратов, применяемые для лечения детей с ОЛЛ, подчеркивают необходимость тестирования множества генетических полиморфизмов, чтобы понять причины неудач в лечении, связанные с индивидуальными особенностями пациента, что является крайне актуальным для повышения эффективности и безопасности терапии ОЛЛ у детей. В то же время, оценка значения полиморфизмов крайне сложна с учетом возможной сочетанной токсичности и влияния большого количества факторов.

В данном исследовании выбор фармакогенетических биомаркеров весьма обоснован: ген *SLCO1B1* и ген *ABCB1*, по литературным данным, могут влиять на антилейкемическую активность МТХ, а следовательно и на результат терапии, и на выраженность нежелательных реакций. Диссертационная работа Гурьевой Оксаны Дмитриевны посвящена изучению роли полиморфных вариантов генов белков-транспортеров МТХ в эффективности и безопасности терапии ОЛЛ у детей, является актуальной и имеет значительные теоретические и практические перспективы.

Научная новизна

Гурьевой О.Д. проведено исследование встречаемости генетических полиморфизмов белков-транспортеров метотрексата *ABCB1* и *SLCO1B1* у детей с острым лимфобластным лейкозом. Впервые определены ассоциативные связи между токсическими нежелательными лекарственными реакциями (≥ 3 степеней выраженности) высокодозного метотрексата, неблагоприятными исходами терапии и носительством полиморфных вариантов генов *ABCB1* и *SLCO1B1*. Автором разработаны прогностические модели риска развития неблагоприятных исходов терапии высокодозным метотрексатом, учитывающие клинические, генетические факторы и дозу препарата. Впервые установлено, что выявление генотипа СС «дикий тип» *ABCB1* rs1128503 необходимо для прогнозирования развития выраженного орофарингеального мукозита, генотипа ТТ *SLCO1B1* T521Crs4149056 - для прогнозирования развития выраженных инфекционных осложнений, «дикого» генотипа GG *ABCB1* rs2032582 и генотипа ТТ *ABCB1* rs4148738 - для определения группы пациентов с повышенным риском развития событий (рецидива и смерти) в отсроченном периоде. Научная новизна и практическая значимость полученных результатов не вызывают сомнений.

Обоснованность и достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

В ходе диссертационной работы Гурьевой О.Д. были использованы общепринятые методы и стандарты проведения фармакогенетических исследований, современные статистические методики. Использование комбинаций аналитических методов, взаимоподтверждающих полученные автором новые данные, позволило получить достоверные и интерпретируемые результаты, которые убедительно доказывают сделанные выводы, соответствующие поставленной цели и задачам исследования.

Оценка структуры и содержания диссертации

Диссертация Гурьевой О.Д. написана в традиционном стиле на 129 страницах машинописного текста, наглядно иллюстрирована 24 таблицами и 14 рисунками. Включает 3 главы, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, приложения и список литературы, насчитывающий 152 литературных источника.

Во **введении** автор диссертации подробно обосновывает актуальность темы и степень разработанности проблемы, описывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, формулирует цель и задачи, определяет положения, выносимые на защиту.

В **литературном обзоре (Глава 1)** приведены терапевтические подходы и основные результаты лечения острого лимфобластного лейкоза у детей. Подробно описаны диагностические особенности, клинические и прогностические факторы. Представленные научные данные иллюстрированы наглядными рисунками и таблицами. Один из подразделов обзора содержит информацию о роли метотрексата в терапии ОЛЛ, его молекулярных механизмах действия, противовоспалительных и антилейкемических эффектах. Большое внимание

уделено фармакогенетическим основам лекарственной токсичности, полиморфным вариантам генов фолатного пути и белков-транспортеров лекарственных средств. Подробно описаны механизмы развития лекарственной токсичности МТХ, указано большое количество ссылок на новейшие исследования зарубежных научных групп, что говорит о большом интересе всего мирового сообщества к данной проблеме.

В **Главе 2** представлено подробное описание методов исследования, клинические и терапевтические характеристики пациентов, распределение полиморфных вариантов генов *ABCB1* и *SLCO1B1* в исследуемой популяции пациентов. Методики воспроизводимы, что подтверждает адекватность их выбора для реализации поставленных задач.

Третья глава содержит результаты собственных исследований и их обсуждение. Данная глава хорошо структурирована.

Автором работы представлен подробный анализ частоты нежелательных лекарственных реакций различной степени выраженности на фоне терапии метотрексатом. Выявлена статистически достоверная взаимосвязь между наличием выраженных инфекционных осложнений и выраженной гематологической токсичностью ($p=0,002$), орофарингеальным мукозитом ($p=0,003$), а также гепатотоксичностью 3-4 ст. ($p<0,001$). Несомненный интерес представляет подробный ассоциативный анализ полиморфизмов генов *ABCB1* и *SLCO1B1* с нежелательными лекарственными реакциями высоких доз метотрексата у детей с ОЛЛ. Установлены достоверные взаимосвязи между генотипами CC rs1128503 *ABCB1*, TT *SLCO1B1* T521C rs4149056, TT *ABCB1* C3435Trs1045642 и повышенным риском развития тяжелых нежелательных лекарственных реакций, таких как мукозит, инфекционные осложнения и нейротоксичность, соответственно.

На основе ассоциативного анализа установлено, что пациенты-носители «дикого» генотипа GG гена *ABCB1* rs2032582 ($p=0,023$, ОИ: 2,5 (95% ДИ: 1,12-5,5)) и генотипа TT гена *ABCB1* rs4148738 ($p=0,031$, ОИ: 2,4 (95% ДИ: 1,07-5,3))

имеют повышенный риск развития неблагоприятных событий в отсроченном периоде, что подтверждено оценкой выживаемости по методу Каплана-Мейера для пациентов с впервые установленным диагнозом ОЛЛ. Показатели пятилетней бессобытийной выживаемости у больных с генотипами ТТ и GT гена *ABCB1* rs2032582 и «диким» типом GG достоверно различались: 90.5% (n=63) и 72.1% (n=43), $p = 0,03$, а у больных с генотипами ТТ и ТС гена *ABCB1* rs4148738 и «диким» типом СС составил: 78.8% (n=80) и 96.2% (n=26), $p = 0,047$, соответственно.

Особенно ценным результатом работы является разработка автором, с помощью логистической регрессии, алгоритмов прогнозирования эффективности безопасности 3 прогностических моделей с высокой чувствительностью, специфичностью и эффективностью, продемонстрировавших достоверные взаимосвязи фармакогенетических факторов, влияющих на неблагоприятные исходы терапии ОЛЛ с включением высокодозного метотрексата. В перспективе полученные результаты могут позволить осуществлять как индивидуальный подбор дозы метотрексата, так и проводить превентивное сопроводительное лечение ожидаемой токсичности.

Объем полученных результатов и проведенных статистических тестов является достаточным для формулирования и обоснования представленных выводов.

В обсуждении автор детально сопоставляет полученные результаты с данными других исследователей. В целом, автором получены очень интересные и перспективные данные, открывающие возможности использования персонализированного подхода в терапии детей с ОЛЛ.

Изложение результатов диссертации обладает целостностью и завершенностью. Работа написана хорошим литературным языком. Автореферат отражает основные положения и результаты диссертационной работы. Полученные результаты диссертационного исследования представлены в 3 печатных работах, из них 2 научные статьи опубликованы в ведущих российских изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки.

Замечания по работе. К содержанию работы могут быть сделаны следующие замечания:

1. В дизайне исследования описано, что анализируются группы пациентов, которые получили терапию ОЛЛ в рамках первой линии терапии по протоколу ALL IC-BFM 2009 и в рамках терапии рецидива по протоколу ALL REZ BFM 2002. Однако, в дальнейшем при оценке риска развития рецидива, события, смерти после проведенной терапии и значения различных полиморфизмов *ABCB1* и *SLCO1B1*, фактор линии терапии (применяемого протокола) не учитывается. Хотя по данным анализа в группе 2-й линии терапии частота летальных исходов составила 50% против 6,6% в первой линии терапии, частота ответа на терапию – 50% против 93,4. Был ли выполнен анализ значения полиморфизмов отдельно для пациентов, получивших терапию по протоколу ALL IC-BFM 2009 и ALL REZ BFM 2002? Не нужно ли в прогностическую модель №1,2,3 включить фактор линии терапии, для оценки вероятности развития терминального события, рецидива и смерти?
2. Как Вы могли бы объяснить патогенетическое значение выявленных полиморфизмов «дикого» генотипа GG *ABCB1* rs2032582 и генотипа TT *ABCB1* rs4148738 - для определения группы пациентов с повышенным риском развития событий (рецидива и смерти) в отсроченном периоде, а также значимость на долгосрочные результаты терапии (пятилетнюю бессобытийную выживаемость)? Почему именно эти варианты полиморфизмов?

Сделанные по ходу рецензии замечания не снижают научной ценности и практической значимости данной работы, проведенной Гурьевой О.Д.

Научно-практическая значимость и внедрение результатов исследования

Результаты, полученные в ходе исследования, позволили Гурьевой О.Д. сформулировать практические рекомендации по проведению фармакогенетического тестирования у детей с ОЛЛЛ. Рекомендовано определение носителей генотипа СС гена *ABCB1* rs1128503, GG гена *ABCB1* rs203258, TT гена *ABCB1* rs4148738, TT гена *SLCO1B1* T521C rs4149056 для прогнозирования эффективности и безопасности терапии метотрексатом детей с острым лимфобластным лейкозом. Полученные результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику научно-исследовательского института детской онкологии и гематологии имени академика РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Акт внедрения от 18.09.2024 г.).

Заключение

Диссертационная работа Гурьевой Оксаны Дмитриевны «Прогнозирование эффективности и безопасности терапии метотрексатом на основе фармакогенетического тестирования при остром лимфобластном лейкозе у детей» является завершенной научно – квалификационной работой, имеющей важное значение для повышения качества, эффективности и безопасности терапии острого лимфобластного лейкоза у детей, что вносит существенный вклад в развитие современной практической персонализированной медицины и онкологии.

Диссертационная работа Гурьевой Оксаны Дмитриевны 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 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539, от 26 октября 2023 г. №1786, от 25 января 2024 г. №62), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой

степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения
искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.6.
Онкология, лучевая терапия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология
(медицинские науки).

*Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу персональных данных в
диссертационный совет 21.1.032.01, созданный на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.*

Официальный оппонент

кандидат медицинских наук (3.1.28. Гематология и переливание крови)
заведующий отделом клеточной и иммунной терапии
ФГБУ «НМИЦ гематологии»
Минздрава России

Алепина Ольга Александровна

14.04.2025 г.

Подпись кандидата медицинских наук, Алепиной Ольги Александровны
заверяю:

Ученый секретарь

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,
кандидат медицинских наук



Джулакян Унан Левонович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный
медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, дом 4.
Телефон: 8 (499) 612-13-31; <https://blood.ru>; E-mail: nauka@blood.ru