

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, заведующего группой высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России Семочкина Сергея Вячеславовича на диссертационную работу Чуркиной Марии Игоревны на тему: «Метилирование генов p53-чувствительных микроРНК MIR-34A, MIR-34B/C, MIR-129-2 и MIR-203 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.28. Гематология и переливание крови и 1.5.7. Генетика.

Актуальность темы диссертационного исследования

В последние десятилетия хорошо прослеживается рост заболеваемости неходжкинскими лимфомами (НХЛ). Ежегодная от НХЛ в мире умирает до 300 тыс. человек. Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) является наиболее распространенным в западных странах подтипом НХЛ с крайне гетерогенным клиническим поведением со значительным разбросом по глубине и продолжительности ответа на лечение.

Наиболее часто применяемым на практике подходом 1-й линии терапии ДВККЛ считается схема R-CHOP, позволяющая достичь длительных ремиссий у 60–70% пациентов. К сожалению, у части пациентов эта терапевтическая комбинация не работает и спрогнозировать это в какой-то степени можно определяя индивидуальный риск пациента по системе Международного прогностического индекса (МПИ). За последние два десятилетия ДВККЛ стала объектом растущего числа молекулярных исследований, которые позволили идентифицировать новые прогностические факторы, активно внедряемые в реальную клиническую

практику. Выявлены неблагоприятные молекулярные подтипы заболевания, основанные на учете экспрессии отдельных генов, изменения числа копий участков генома и мутационных профилей. Наибольшее неблагоприятное прогностическое значение при ДВККЛ придается мутациям гена *TP53*. Однако появляется все больше данных о том, что нарушение функционирования этого гена может быть связано не только с мутационными событиями в нем самом, но и с изменением работы других участников регуляторной сети белка p53. Между тем, следует признать, что понимание конкретных механизмов указанных нарушений и их клинического значения при ДВККЛ не до конца понятно.

Результаты недавних исследований позволяют предполагать, что, наряду с нарушениями на уровне ДНК, формированию агрессивного и химиорезистентного фенотипа ДВККЛ способствует эпигенетическое перепрограммирование. Накоплению объема информации по данной проблеме могут способствовать междисциплинарные исследования механизмов нарушения работы сигнальной цепи ключевого антионкогена человека *TP53* в опухолевой ткани ДВККЛ.

В связи с этим, не вызывает сомнения актуальность диссертационной работы Чуркиной Марии Игоревны, посвященной изучению метилирования генов p53-чувствительных микроРНК *MIR-34A*, *MIR-34B/C*, *MIR-129-2* и *MIR-203* при ДВККЛ.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе, подтверждена широким анализом отечественных и зарубежных работ по теме исследования. Их достоверность обусловлена достаточным объемом выборки (136 пациентов с ДВККЛ и контрольная группа из 11 пациентов с реактивным

лимфаденитом) и применением современных молекулярно-генетических методов исследования.

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Обращает на себя внимание использование в работе современных наукоемких методик, таких как, бисульфитное и прямое секвенирование по Сэнгеру, метил-чувствительный анализ кривых плавления высокого разрешения и метил-специфичная ПЦР. При обработке данных наряду со стандартными методами статистического анализа широко применялись специализированные биоинформационные программы.

Выводы и практические рекомендации по диссертации закономерно вытекают из содержания работы, основных научных положений, выносимых на защиту, соответствуют поставленным цели и задачам, подкрепляются обширным графическим и табличным материалом.

Результаты диссертационной работы и положения полностью отражены в 18 печатных работах, в том числе 8 статьях в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, включая 5 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Chemical Abstracts. Предварительные и окончательные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на профильных Российских и Международных научно-практических конференциях и форумах.

Научная новизна и практическая ценность диссертационного исследования

Полученные в диссертационном исследовании данные расширяют фундаментальные знания о биологии ДВККЛ и механизмах нарушения функционирования p53-регуляторной сети в этой опухоли. Научная новизна исследования не вызывает сомнений.

Диссертантом впервые показано, что аберрантное метилирование p53-чувствительных генов микроРНК – частое и сочетанное явление при ДВККЛ, которое может быть связано с агрессивным течением опухоли, обладает диагностической ценностью и потенциально может служить мишенью для таргетного лечения ДВККЛ. В данном исследовании впервые проведен сравнительный анализ статуса метилирования генов микроРНК у пациентов с ДВККЛ и больных реактивными лимфаденопатиями, что позволило установить опухоль-специфичный характер метилированного статуса *MIR-129-2* и *MIR-203*, а также генов семейства *mir-34*.

Научную новизну представляют полученные в диссертационном исследовании данные по ассоциации метилирования гена *MIR-34A* с группами неблагоприятного прогноза в соответствии с МПИ, а также сведения о меньшей частоте достижения ремиссии на 1-ой линии терапии ДВККЛ по протоколу R-CHOP. Впервые описана большая частота выявления аберрантного метилирования *MIR-34A* в старшей возрастной группе больных. Впервые установлена связь метилирования *MIR-34B/C* и *MIR-203* с более высоким уровнем экспрессии Ki-67 в опухолевой ткани лимфомы, а также показателями параклинической активности злокачественного процесса, а именно повышением скорости оседания эритроцитов и уровня С-реактивного белка.

Наконец, полученные данные свидетельствуют о том, что снижение при ДВККЛ уровня онкосупрессорных p53-чувствительных микроРНК *miR-34a*, *miR-34b/c*, *miR-203*, *miR-129* может быть результатом аберрантного метилирования генома в области расположения соответствующих генов p53-чувствительных микроРНК, которое возникает независимо от аббераций в гене *TP53*.

Практическая значимость исследования

Диссертационная работа Чуркиной М.И. имеет важное практическое значение, о чем, несомненно, свидетельствует поддержка научного

исследования грантом Российского научного фонда. Полученные Чуркиной М.И. результаты имеют прямой выход в персонализированную медицину и могут способствовать разработке подходов в стратификации пациентов на группы риска неэффективности стандартного лечения ДВККЛ, а также повышению эффективности лечения заболевания путем разработки таргетных подходов терапии. В частности, полученные данные свидетельствуют о потенциале дальнейших исследований, направленных на обоснование применения при ДВККЛ гипометилирующих агентов.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс при чтении лекций и проведении практических занятий со студентами и курсантами ФУВ на кафедре терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ ФГБОУ «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. В работе гематологического отделения ГБУЗ НСО Городской клинической больницы №2 используются материалы, касающиеся дифференциальной диагностики ДВККЛ и реактивных лимфаденопатий на основании метилированного статуса генов изучаемых микроРНК и стратификации пациентов на группы риска неэффективности стандартного лечения ДВККЛ по протоколу R-CHOP.

Кроме того, результаты диссертационного исследования внедрены в практику лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ИЦиГ СО РАН.

Полученные в работе данные прошли серьезную научную экспертизу, поскольку докладывались на многочисленных научных форумах, в том числе за рубежом.

Структура, содержание и оценка диссертационной работы в целом, замечания по оформлению

Диссертационная работа изложена на 167 страницах машинописного текста, содержит 17 рисунков и 17 таблиц, иллюстрирующих результаты

работы. Диссертация имеет классическую структуру: введение, четыре главы (обзор литературы, материал и методы, результаты диссертационного исследования, заключение), выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений. Список литературы представлен 326 источниками, из которых 305 были опубликованы в зарубежных и 21 в отечественных изданиях.

Во **введении** автор представляет актуальность проблемы, чётко обосновывает цель и задачи диссертационной работы, научную новизну и положения, выносимые на защиту.

Первая глава представляет обзор литературы, посвященный проблеме механизмов нарушения экспрессии и роли при лимфопролиферативных заболеваниях p53-чувствительных микроРНК как miR-203, miR-129, miR-34a, miR-34b и miR-34c, мишенями которых являются участвующие в лимфогенезе онкогены. Глава легко читается, написана грамотно, интересно, с серьезным всесторонним анализом современной научной литературы по разрабатываемой тематике. Последние приведенные публикации относятся к 2022-2023 гг.

Во **второй главе**, посвященной материалам и методам, описаны все разделы дизайна исследования, дана подробная клиническая характеристика больных, проходивших обследование и лечение в Городском гематологическом центре г. Новосибирска. Дано исчерпывающее описание молекулярно-генетических методик и последующей биоинформационной обработки полученных данных.

В **третьей главе** проводится описание результатов собственного исследования и их последующего анализа. Автором дается их научное обоснование, сопоставление с данными зарубежных авторов, проводится дополнительный анализ литературы по изучаемой проблеме. Достоверность полученных различий между группами подкрепляется статистическим анализом, в том числе с поправкой на множественность

сравнений, и графическими построениями. Глава хорошо иллюстрирована таблицами и рисунками.

В главе «Заключение» представлен итог анализа полученных данных, где автор структурирует и интегрирует полученные результаты в общий контекст современных исследований по изучаемой тематике, сопоставляя их с публикациями других авторов, подтверждая сделанные выводы.

Заключения и выводы, представленные в диссертации, соответствуют цели, задачам работы и полностью отражают ключевые результаты проведенного исследования. Замечаний к представленной диссертационной работе нет.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

В автореферате Чуркиной М.И. отражено основное содержание диссертации, соответствуя указанным специальностям и теме работы.

Заключение

Диссертационная работа Чуркиной М.И. на тему: «Метилирование генов р53-чувствительных микроРНК *MIR-34A*, *MIR-34B/C*, *MIR-129-2* и *MIR-203* при диффузной В-крупноклеточной лимфоме», выполненная под руководством д-ра мед. наук, профессора Поспеловой Татьяны Ивановны и д-ра мед. наук Воропаевой Елены Николаевны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.28. Гематология и переливание крови и 1.5.7. Генетика, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача гематологии, показывающей роль метилирования *MIR-129-2*, *MIR-203* и генов микроРНК семейства *mir-34* как опухоль-специфических событий. Доказано, что указанные находки

свидетельствует о более агрессивном течении заболевания и является потенциальной мишенью для разработки таргетных подходов лечения.

По своей актуальности, объему выполненных исследований и научно-практической значимости полученных результатов данная работа отвечает всем требованиям, предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата наук постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. От 18.03.2023) "О порядке присуждения ученых степеней" (вместе с "Положением о присуждении ученых степеней"), а ее автор, Чуркина Мария Игоревна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.28. Гематология и переливание крови и 1.5.7. Генетика.

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 ФGAOY BO «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Семочкин С.В.

14.05.2024 г.

Подпись Семочкина Сергея Вячеславовича заверяю:

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

Жарова Е.П.

125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3, тел./факс: +7 (495) 945-80-20,

Email: mnioi@mail.ru <https://www.mnioi.nmici.ru>

