

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Самарский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации, профессор РАН,
доктор медицинских наук, профессор

А.В. Колсанов

2024 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертационной работы Чуркиной Марии Игоревны «Метилирование генов p53-чувствительных микроРНК *MIR-34A*, *MIR-34B/C*, *MIR-129-2* и *MIR-203* при диффузной В-крупноклеточной лимфоме», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.28. Гематология и переливание крови и 1.5.7. Генетика

Актуальность темы исследования

Исследования последних лет показывают, что самое распространённое новообразование лимфоидной ткани - диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) состоит из множества различных по течению подтипов, которые не должны подвергаться единому стандартизованному лечению. Среди пациентов с диагнозом ДВККЛ излечиваются после проведения стандартной иммунохимиотерапии в первой линии только две трети больных. Вместе с тем,

треть пациентов погибает от осложнений лимфомы в течение первого года после установления диагноза.

Ввиду агрессивности течения, ДВККЛ является заболеванием, при котором важнейшей целью лечащего врача является достижение стойкой полной ремиссии в результате 1-й линии терапии. Все это, бесспорно, свидетельствует о необходимости верификации наиболее агрессивных вариантов лимфом с целью проведения интенсивных программ иммунохимиотерапии. В дополнение к этому, не менее важным является проведение более эффективных программ лечения, таргетных подходов, направленных на преодоление рефрактерного/рецидивирующего течения заболевания.

Наиболее эффективным в стратификации пациентов с ДВККЛ на группы риска раннего прогрессирования является комплексное молекулярно-генетическое тестирование. Однако в связи с тем, что комплексный полногеномный анализ мутационного профиля, метилома, транскриптома и копийности генетического материала с помощью массового параллельного секвенирования, микрочипов и других наукоемких подходов в настоящее время недоступен для использования в клинической практике, мировым научным сообществом ведется поиск наиболее значимых отдельных маркеров, ассоциированных с неблагоприятным течением лимфомы, которые пригодны для быстрой трансляции в практическую медицину.

Установлено, что мутационный статус гена *TP53* имеет большое значение при ДВККЛ и является предиктором плохого ответа и низкой выживаемости при лечении ДВККЛ по программе R-СНОР. В то же время данный маркер не объясняет всех случаев рефрактерно-рецидивирующего течения опухоли. По-видимому, это свидетельствует о наличии в опухолевой ткани больных ДВККЛ других молекулярно-генетических нарушений, определяющих отсутствие ответа на лечение. Более глубокое понимание нарушений, затрагивающих p53-сигнальный путь, имеет важное значение для выявления механизмов формирования, прогрессии ДВККЛ и ее чувствительности к терапии.

В соответствии с этим, диссертационная работа Чуркиной М.И., посвященная изучению метилирования генов p53-чувствительных онкосупрессорных микроРНК и aberrаций в гене *TP53* при ДВККЛ, является актуальной как для современной медицинской науки в целом, так и для онкогематологии в частности, и имеет фундаментальное и прикладное значение. Дополнительно об этом свидетельствует поддержка исследования грантом Российского научного фонда №22-25-000222 в 2022-2023 гг. на тему: «Метилирование генов p53-респонсивных онкосупрессорных микроРНК при неходжкинских лимфомах».

Новизна исследования, достоверность и ценность полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе представлен уникальный клинический материал, основанный на глубоком анализе клинико-лабораторных характеристик и молекулярно-генетических данных большой отечественной выборки пациентов с ДВККЛ – 136 случаев. Впервые показано, что метилирование *MIR-34A*, *MIR-34B/C*, *MIR-129-2* и *MIR-203* с высокой частотой регистрируется в ткани пораженных лимфоузлов больных ДВККЛ и отсутствует в ткани увеличенных лимфоузлов пациентов с реактивными лимфаденопатиями.

Впервые описана большая частота выявления aberrантного метилирования *MIR-34A* у больных лимфомой старше 60 лет. Научную новизну представляют данные об ассоциации метилирования *MIR-34A* с группами неблагоприятного прогноза, согласно Международному прогностическому индексу. Последнее также согласуется с результатами, свидетельствующими о меньшей частоте достижения ремиссии после первой линии терапии ДВККЛ по протоколу R-CHOP в подгруппе пациентов с метилированием данного гена.

Большой интерес представляют новые данные о связи метилирования генов *MIR-34B/C* и *MIR-203* с более высоким уровнем экспрессии Ki-67 и острофазовых белков, а, следовательно, выраженным пролиферативным потенциалом злокачественных В-клетки большим объемом опухолевой массы при ДВККЛ.

Автором впервые на репрезентативной выборке пациентов проведено комплексное исследование метилирования панели генов p53-чувствительных микроРНК и aberrаций в гене *TP53* при ДВККЛ. По итогам работы впервые установлены частоты метилирования *MIR-203*, *MIR-129-2*, *MIR-34A* и *MIR-34B/C* в опухолевой ткани ДВККЛ. Показано, что при данной лимфоме статус метилирования анализируемых генов достоверно коррелирует друг с другом.

Вместе с тем, результаты комплексного анализа свидетельствуют о независимом характере обнаружения aberrаций в гене *TP53* и метилирования генов *MIR-34A*, *MIR-34B/C*, *MIR-129-2* и *MIR-203*. Таким образом, впервые доказано, что метилирование изученных генов – независимый от мутаций в *TP53* механизм нарушения экспрессии микроРНК *miR-203*, *miR-129*, *miR-34a*, *miR-34b* и *miR-34c* при ДВККЛ.

Фундаментальная составляющая научной новизны заключается в углублении современных знаний о роли в лимфогенезе нарушений в гене *TP53* и нижестоящих участниках p53-сигнального пути.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций

Проведение исследования одобрено комитетом по этике ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Достоверность полученных результатов обеспечена обоснованностью исходных теоретических позиций, адекватным дизайном работы, достаточным фактическим материалом, репрезентативностью выборки и применением комплекса современных методов клинического, лабораторно-инструментального и молекулярно-генетического исследования, а также биоинформационного и статистического анализа, соответствующих цели и задачам работы.

Все это делает убедительными полученные результаты и обосновывает ценность и достоверность научных положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Основные положения диссертационной работы базируются на достаточно полном и разнообразном представлении полученных результатов, детальном их анализе и полноценном обсуждении. Выводы диссертации сформулированы в соответствии с полученными результатами проведённого исследования и соответствуют поставленной цели и задачам; закономерно вытекают из основных научных положений, защищаемых автором, имеют важное научно-практическое значение.

Соответствие содержания диссертации паспорту специальности

Область диссертационного исследования соответствует паспорту специальности 3.1.28. – Гематология и переливание крови п.4. «Диагностика и изучение клинического течения наследственных и приобретенных болезней системы крови, а также патологических состояний, возникающих в экстремальных условиях, с привлечением широкого спектра лабораторных, клинических и инструментальных исследований, в том числе лучевых методов визуализации, с использованием методов статистического анализа и обобщения клинических данных»; соответствует паспорту специальности 1.5.7. – Генетика п.7. «Генетика человека и медицинская генетика. Мультифакторные заболевания», п.11. «Математическая генетика и биоинформатика. Анализ геновых последовательностей. Биоинформатика».

Практическая значимость полученных автором диссертации результатов для медицинской науки и клинической практики

Диссертационная работа Чуркиной М.И. имеет несомненное практическое значение. Автором подтверждена высокая значимость нарушения функционирования при ДВККЛ регуляторной сети белка p53, включающей микроРНК.

В совокупности полученные результаты свидетельствуют о том, что аберрантное метилирование изучаемых генов p53-чувствительных микроРНК – частое и сочетанное явление при ДВККЛ, которое может быть связано с более агрессивным течением опухоли, обладает дифференциально-диагностической ценностью и потенциально может служить мишенью для таргетного лечения ДВККЛ.

Показано, что выявляемое в ткани пораженных лимфоузлов больных ДВККЛ метилирование *MIR-129-2* и *MIR-203*, а также генов семейства miR-34 может быть дополнительным биомаркером для дифференциальной-диагностики ДВККЛ и реактивных лимфаденопатий: анализ метилирования всех 4-х генов позволяет отличить опухолевые образцы лимфоузлов от реактивных со специфичностью 100% и чувствительностью 89%.

Полученные в ходе диссертационного исследования результаты показали значение сочетанного метилирования *MIR-34B/C* и *MIR-203* в качестве предикторов высокой пролиферативной активности опухолевого субстрата при ДВККЛ, а также выявили ассоциацию метилирования *MIR-34A* с пожилым возрастом пациентов, неблагоприятным прогнозом по МПИ и значимо меньшей частотой достижения ремиссии при терапии первой линии по протоколу R-CHOP, что свидетельствует о потенциале анализа метилирования в качестве маркера для стратификации пациентов на группы риска неэффективности стандартного лечения ДВККЛ.

Полученные данные могут повлиять на терапевтические решения, служить основой персонализации лечения и обеспечить усовершенствование схем ведения больных. Результаты свидетельствуют о потенциале дальнейших исследований, направленных на разработку таргетных подходов к терапии ДВККЛ, в частности, применения деметилирующих агентов, способствующих снятию патологического метилирования генов p53-чувствительных микроРНК.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

На основании результатов диссертационной работы автор рекомендует на этапе диагностики лимфомы проводить анализ статуса метилирования панели из четырех генов – *MIR-203*, *MIR-129-2*, *MIR-34A* и *MIR-34B/C* – в ткани увеличенных лимфоузлов для дифференциальной диагностики ДВККЛ поликлональной В-клеточной пролиферации.

Предложенный автором подход, предусматривающий выполнение молекулярно-генетического тестирования на этапах диагностики диффузной В-крупноклеточной лимфомы, может способствовать выявлению у больного метилированного статуса *MIR-34A*, при котором независимо от мутационного статуса *TP53*, следует обсуждать возможность применения более агрессивных схем терапии первой линии.

Результаты диссертационного исследования, выводы и практические рекомендации, сделанные автором, могут быть внедрены в практическую работу онкогематологических отделений и стационаров, а также генетических лабораторий и использоваться в учебном процессе на профильных кафедрах медицинских ВУЗов и институтов усовершенствования врачей.

Результаты работы уже внедрены в учебный процесс кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ Новосибирского государственного медицинского университета и практику лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, а также практику отделения гематологии ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2»г. Новосибирска.

Полнота изложения результатов диссертации в публикациях

По теме диссертации опубликованы 18 печатных работ, в том числе 8 статей 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, на соискание ученой степени доктора наук, из них 4 статьи в журналах категории K1 и 1 статья в журнале категории K2, входящих в список изданий, распределённых по категориям K1, K2, K3, в том числе 5 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus и SA(pt).

Полученные результаты широко представлены в виде докладов на российских и международных научно-практических конференциях, где неоднократно были отмечены, в том числе, Стипендией European Society of HumanGeneticsconference (2022, г. Вена) и дипломом «Лучший постерный доклад в секции Онкология» Всероссийского конгресса молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» (2022, г. Томск).

Личный вклад автора

Автор диссертационного исследования участвовал во всех этапах проведения исследования: разработке дизайна исследования, внес личный вклад в формулировку цели и задач, самостоятельно проводил выполнение основных этапов работы: анализ данных литературы, сбор биологического материала и клинических данных, статистическую обработку, обобщение и интерпретацию научных результатов, обсуждение результатов исследования и формирование выводов. В соавторстве написал и опубликовал все печатные работы в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа имеет традиционный стиль изложения, представлена 167 страницами машинописного текста, построена по классическому образцу и содержит введение, четыре главы (обзор литературы, материал и методы, результаты диссертационного исследования, заключение), выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы и список иллюстративного материала. Список цитируемой литературы представлен 326 источниками, из которых 305 в зарубежных изданиях. Работа иллюстрирована 17 рисунками и 17 таблицами.

Соответствие автореферата содержанию диссертации

В автореферате Чуркиной М.И. отражено основное содержание диссертации, которое соответствует указанным специальностям и теме исследования. Автореферат написан на высоком методическом уровне и полностью соответствует требованиям, пунктов 9-14 постановления Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. От18.03.2023) «О порядке присуждения ученых степеней» (вместе с "Положением о присуждении ученых степеней»). Принципиальных замечаний по его содержанию нет.

Заключение

Диссертационная работа Чуркиной Марии Игоревны «Метилирование генов р53-чувствительных микроРНК *MIR-34A*, *MIR-34B/C*, *MIR-129-2* и *MIR-203* при диффузной В-крупноклеточной лимфоме», 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 на основании выполненных автором исследований сформулировано и обосновано новое решение актуальной научной задачи: изучены частота, сочетанность и клиническое значение метилирования

ственное учреждение «Самарский
государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, г. Самара, ул.
Электронная почта: info@samsmu.ru,
адрес: 443006, Самарская область, г. Самара, ул. Молодежная, 15
Высшего образования «Самарский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России)

ВЕРНО:

Начальник отдела кадров _____

« 15 » мая 2024 г.