

В диссертационный совет 21.1.025.01,
при ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии
и иммунологии имени Дмитрия Рогачева»
Министерства Здравоохранения Российской Федерации

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, Бойченко Эльмиры Госмановны на диссертацию Лебедевой Светланы Александровны на тему «Острый миелоидный лейкоз с перестройками гена *KMT2A* у детей: прогностическое значение молекулярно-генетической характеристики и мониторинг минимальной остаточной болезни», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.28. Гематология и переливание крови, 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

Актуальность темы исследования

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) представляет собой гетерогенную группу гемобластозов, обусловленных опухолевой трансформацией и неконтролируемой пролиферацией незрелых миелоидных клеток.

Около 25% от всех первичных ОМЛ у детей составляет ОМЛ с перестройками гена *KMT2A*. Ген *KMT2A* кодирует фермент лизинметилтрансферазу 2А, входящий в состав крупного хроматин-модулирующего белкового комплекса, осуществляющего эпигенетический контроль экспрессии генов. Он играет важную роль в самообновлении стволовой кроветворной клетки в эмбриональном и в постнатальном гемопоэзе, и перестройки этого гена могут встречаться как при ОМЛ, так и при других вариантах острого лейкоза (острый лимфобластный – ОЛЛ, острый билинейный и бифенотипический лейкоз, вторичный ОЛ). Гетерогенность группы ОМЛ с перестройки гена *KMT2A* обусловлена широким

спектром генов-партнеров и различной локализацией точки разрыва (ТР) гена *KMT2A*.

Наличие перестройки гена *KMT2A* ассоциировано с неблагоприятным прогнозом, однако в ряде исследований было продемонстрировано, что прогноз у данной группы пациентов может варьировать в зависимости от природы гена-партнера, а также локализации ТР в гене *KMT2A*. Так, по данным литературы, транслокации, при которых точка разрыва находится в интроне 11 гена *KMT2A*, ассоциированы с наиболее неблагоприятным прогнозом, что было преимущественно изучено и продемонстрировано у младенцев с ОЛЛ. Поэтому становится очевидной необходимость всестороннего исследования прогностической значимости характера перестройки гена *KMT2A*, включая локализацию ТР гена *KMT2A* и природу гена-партнера.

Мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) является ключевым компонентом современных протоколов по лечению ОМЛ.

Перестройки гена *KMT2A* представляют собой привлекательную мишень для ПЦР-мониторинга МОБ, поскольку являются ведущим событием в онкогенной трансформации и не теряются в ходе клональной эволюции. Однако их выявление и количественная оценка рутинными молекулярно-генетическими методами затруднена вследствие высокой гетерогенности. Поэтому для первичной диагностики ОМЛ, а так же для мониторинга эффективности химиотерапии и оценки глубины достигнутого ответа на лечение посредством детекции МОБ необходим выбор наиболее эффективного метода, что предполагает проведение сравнения существующих молекулярно-генетических методов мониторинга МОБ у данной группы пациентов.

Принимая во внимание отсутствие однозначного суждения о влиянии природы гена-партнера, вовлеченного в транслокацию с участием гена *KMT2A*, и локализации ТР гена *KMT2A* на прогноз общей и бессобытийной выживаемости у детей с ОМЛ, а так же недостаточную изученность частоты встречаемости, спектра перестроек гена *KMT2A* и их прогностической значимости у детей

разных возрастных групп, работа Лебедевой Светланы Александровны является актуальным научным исследованием в области детской гематологии и онкологии.

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

Обоснованность научных положений, выводов и практических рекомендаций, представленных в диссертации Лебедевой Светланы Александровны, подтверждается четким планированием и тщательной организацией диссертационного исследования.

В исследование включено 296 пациентов детского возраста с *КМТ2А*-позитивным ОМЛ, из них 116 пациентов получали специфическую терапию согласно протоколу ОМЛ-MRD-2018. Важно подчеркнуть, что для достижения однородности исследуемой группы автором были использованы достаточно строгие критерии отбора пациентов, включенных в анализ. Диссертантом грамотно сформулированы и последовательно реализованы цель и задачи исследования, логично выстроена структура работы.

Примененные статистические методы являются рациональными и выбраны с учетом поставленных в работе задач. Выносимые на защиту положения логически базируются на результатах проведенного исследования. Достоверность и значимость результатов подтверждается публикациями автора, отражающими ключевые результаты исследования, в рецензируемых журналах.

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Научная новизна исследования не вызывает сомнений. По количеству включенных в исследование пациентов детского возраста с *КМТ2А*-позитивным ОМЛ, работа Лебедевой Светланы Александровны является самым крупным анализом, проведенным в Российской Федерации. В диссертационной работе

впервые в Российской Федерации на большой группе пациентов были изучены частота встречаемости и спектр перестроек гена *KMT2A* у детей с ОМЛ, проведен анализ по возрастным группам. Продемонстрировано отсутствие достоверной взаимосвязи между природой гена-партнера и локализацией ТР в гене *KMT2A* у детей с ОМЛ. В результате проведенного исследования был выявлен ряд нетипичных перестроек гена *KMT2A*, при этом 2 редких гена-партнера были установлены и описаны впервые (гены *ВТК* и *PRPF19*).

Также впервые в Российской Федерации изучено влияние природы гена партнера и локализации ТР в гене *KMT2A* на прогноз выживаемости у пациентов детского возраста с ОМЛ, получавших специфическую терапию в соответствии с протоколом ОМЛ-MRD-2018. Выполнено сравнение молекулярно-генетических методов мониторинга МОБ у детей с *KMT2A*-позитивным ОМЛ: моноплексной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и мультиплексной ОТ-ПЦР.

Новизна полученных результатов подтверждается их оригинальностью и отсутствием аналогичных исследований в отечественной литературе. Достоверность полученных результатов и выводов обусловлена репрезентативным объемом выборки пациентов и корректным выбором методов статистического анализа данных, соответствующих решаемым задачам.

Практическая значимость

Диссертационная работа Лебедевой Светланы Александровны характеризуется высокой научной и практической значимостью. Автором продемонстрировано отсутствие достоверного влияния характера перестройки гена *KMT2A* (а именно природы гена-партнера и локализации ТР в гене *KMT2A*) на прогноз общей и бессобытийной выживаемости у детей с ОМЛ.

На большом объеме материала показана сопоставимая с другими перестройками гена *KMT2A* неблагоприятная прогностическая значимость транслокации $t(9;11)(p22;q23.3)/KMT2A::MLLT3$, наличие которой не улучшает

прогноза. Данное обстоятельство диктует целесообразность стратификации всех пациентов детского возраста с *KMT2A*-позитивным ОМЛ в группу высокого риска вне зависимости от структуры *KMT2A*-химерного гена с проведением аллогенной ТГСК в рамках терапии первой линии.

Автором продемонстрирована большая чувствительность моноплексной ОТ-ПЦР в сравнении с мультиплексной ОТ-ПЦР в контексте детекции *KMT2A*-химерных транскриптов. На основании результатов, полученных при проведении данной работы, разработан и внедрен в практику подробный алгоритм детекции перестроек гена *KMT2A*, который может быть использован при первичной диагностике у пациентов с ОМЛ и для мониторинга МОБ с использованием молекулярно-генетических методов у детей с *KMT2A*-позитивным ОМЛ.

Таким образом, полученные в результате диссертационного исследования данные в полной мере дают практическому здравоохранению важные инструменты для полноценного суждения о биологии заболевания, ее влиянии на прогноз и объем необходимой терапии в каждом конкретном случае; сформулированы рекомендации по методам первичной диагностики перестроек гена *KMT2A* и определения молекулярного МОБ-статуса, а так же по клинической интерпретации полученных результатов у пациентов с *KMT2A*-позитивным ОМЛ.

Публикации по теме диссертации

Материалы и результаты диссертации опубликованы в 9 печатных работах, из них 4 статьи в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов диссертаций, 4 статьи в зарубежных журналах, индексируемых Scopus.

Общая характеристика работы

Диссертация выполнена в соответствии с действующими требованиями и имеет логичную, последовательно выстроенную структуру. Объем работы составляет 135 страниц, включая введение, обзор литературы, описание материалов и методов, главы с изложением и обсуждением результатов диссертационного исследования, выводы, практические рекомендации, список сокращений и библиографию из 172 источников. Иллюстративный материал представлен 40 рисунками и 16 таблицами.

Обзор литературы написан хорошим научным языком и в полной мере отражает сложность, актуальность и прикладное значение изучаемой проблемы.

В *обзоре литературы* подробно представлены данные о структуре и функции белка КМТ2А, спектре перестроек гена *КМТ2А* и механизмах нарушения регуляции транскрипции при перестройках *КМТ2А*, методах детекции перестроек гена *КМТ2А* с целью первичной диагностики и для мониторинга минимальной остаточной болезни при *КМТ2А*-позитивных острых лейкозах. Представлен анализ литературы, посвященной прогностическому значению различных вариантов перестроек гена *КМТ2А*.

Глава, посвященная *материалам и методам*, написана детально, дает исчерпывающее представление обо всех использованных в работе диагностических, исследовательских и терапевтических методах: соискателем четко представлены критерии включения в исследование, дизайн исследования, подробно описаны методы детекции перестроек гена *КМТ2А*, а также режимы химиотерапии, которые применялись для лечения пациентов; указаны использованные методы статистической обработки.

В главе 3 приводятся *результаты* собственных исследований, которые в полной мере отражают объем проведенной работы. Диссертационная работа представляет собой результат ретроспективно-проспективного моноцентрового исследования, в которое было включено 296 пациентов с *КМТ2А*-позитивным

ОМЛ в возрасте от 4 дней до 17,5 лет, включенных за 10-летний период (с января 2014 г. по июль 2024 г.).

Представлена подробная молекулярно-генетическая характеристика КМТ2А-позитивного ОМЛ у детей в зависимости от возраста пациентов, детально проанализирован спектр перестроек гена *КМТ2А*, проведена оценка сопряженности между наиболее частыми генами-партнерами и локализациями точки разрыва гена *КМТ2А*. Данные снабжены качественным иллюстративным материалом – рисунками, таблицами, графиками.

Проведен сравнительный анализ значений общей выживаемости (ОВ) и бессобытийной выживаемости (БСВ) и обоснование прогностического значения в зависимости от природы гена-партнера и локализации точки разрыва в гене *КМТ2А* в различных возрастных группах.

Автором проведен анализ молекулярно-генетических методов мониторинга МОБ у данной группы пациентов, а также разработан алгоритм детекции перестроек гена *КМТ2А*, который может быть рекомендован для использования как при первичной диагностике, так и при дальнейшем мониторинге МОБ.

В разделе *обсуждение результатов* автором суммируются, обобщаются и сопоставляются с международными и отечественными исследованиями полученные в ходе диссертационного исследования данные, которые подтверждают неблагоприятное прогностическое влияние перестройки гена *КМТ2А*, независимое от природы гена-партнера и локализации ТР, и целесообразность проведения таким пациентам аллогенной ТГСК в рамках терапии первой линии.

Завершая раздел, соискатель подводит итоги проведенного исследования, соотносит полученные результаты с поставленными задачами.

Выводы обоснованы результатами диссертационного исследования и соответствуют положениям, выносимым на защиту.

Представленные практические рекомендации логично вытекают из полученных данных, четко сформулированы и могут быть использованы в клинической практике.

Соответствие содержания автореферата основному содержанию и выводам диссертации

Автореферат корректно и полноценно отражает структуру, содержание и ключевые выводы диссертации, содержит необходимые разделы, таблицы и рисунки. Все положения, представленные в автореферате, соответствуют содержанию диссертации.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний и возражений материалы диссертации не вызывают.

В порядке дискуссии хотелось бы задать автору следующие вопросы:

1. С чем, с Вашей точки зрения, связано преобладание перестройки гена КМТ2А в раннем детском возрасте (особенно у детей первого года жизни) при разных вариантах острого лейкоза, при том, что молекулярно-генетическая характеристика КМТ2А-позитивных ОЛ (природа генов-партнеров и локализация TP в гене КМТ2А) различна при ОМЛ и ОЛЛ?

2. Оказывал ли в Вашем исследовании младенческий возраст влияние на прогноз выживаемости у пациентов с КМТ2А-позитивным ОМЛ?

3. В соответствии с полученными Вами данными, всех пациентов с КМТ2А-позитивным ОМЛ, независимо от варианта перестройки гена КМТ2А, следует относить к группе высокого риска. Каково значение и место столь детальной и тщательной молекулярно-генетической характеристики перестройки гена КМТ2А: для мониторинга МОБ? требуется продолжение набора материала с целью определения прогностической значимости нетипичных вариантов перестроек гена КМТ2А для окончательного понимания влияния на прогноз

отдельных вариантов перестройки гена *KMT2A* и стратификации пациентов на разные группы риска?

Заключение

Диссертация Лебедевой Светланы Александровны на тему «Острый миелоидный лейкоз с перестройками гена *KMT2A* у детей: прогностическое значение молекулярно-генетической характеристики и мониторинг минимальной остаточной болезни», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Новичковой Галины Анатольевны и кандидата биологических наук Зеркаленковой Елены Александровны является законченной научно-квалификационной работой, в которой успешно решена актуальная научно-клиническая задача по усовершенствованию подходов к диагностике и лечению пациентов детского возраста с *KMT2A*-позитивным ОМЛ – продемонстрировано, что данная группа пациентов характеризуется неблагоприятным прогнозом вне зависимости от структуры *KMT2A*-химерного гена, а также описан диагностический алгоритм, который может быть использован в практике врачей гематологов и молекулярных генетиков.

По своей актуальности, новизне, практической и теоретической значимости, методическому уровню и объему выполненных исследований, работа полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842 (с изменениями и дополнениями во всех последующих редакциях постановлений Правительства Российской Федерации), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Лебедева Светлана Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови, 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, главный внештатный детский специалист гематолог, заведующая онкологическим отделением №6 Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий»

Бойченко Эльмира Госмановна

01.12.2025

Подпись доктора медицинских наук, Бойченко Э.Г. заверяю:

Заместитель главного врача по кадрам

СПб ГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий»

Максимова Вероника Вадимовна



Сведения об организации:

Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий», 198205, Санкт-Петербург, ул. Авангардная, д.14. +7(812) 217-21-20

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте

по защите диссертации Лебедевой Светланы Александровны на тему «Острый миелоидный лейкоз с перестройками гена *KMT2A* у детей: прогностическое значение молекулярно-генетической характеристики и мониторинг минимальной остаточной болезни», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.28. Гематология и переливание крови, 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

Ф.И.О.	Год рождения, гражданство	Место работы, должность	Ученая степень (шифр специальности, по которой защищалась диссертация)	Ученое звание (по специальности и или по кафедре)	Список основных публикаций в рецензируемых научных изданиях по теме оппонируемой диссертации
Бойченко Эльмира Госмановна	1958, Российская Федерация	главный внештатный детский специалист гематолог, заведующая онкологическим отделением №6 СПб ГБУЗ	Доктор медицинских наук по специальностям 3.1.28. Гематология и переливание крови, 3.1.21. - Педиатрия		1) Comparison of minimal residual disease measurement by multicolour flow cytometry and PCR for fusion gene transcripts in infants with acute lymphoblastic leukaemia with <i>KMT2A</i> gene rearrangements. Popov A, Tsaur G, Verzhbitskaya T, Riger T, Permikin Z, Demina A, Mikhailova E, Shorikov E, Arakaev O, Strenева O, Khlebnikova O, Makarova O, Miakova N, Fominikh V, Boichenko E et al. Br J Haematol. 2023 May;201(3):510-519. doi: 10.1111/bjh.18021.

		<p>«Детский городской многопрофи льный клинический специализир ованный центр высоких медицински х технологий»</p>			<p>2) Genetic characteristics and treatment outcome in infants with KMT2A germline B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: Results of MLL-Baby protocol. Popov A, Tsaur G, Permikin Z, Henze G, Verzhbitskaya T, Plekhanova O, Nokhrina E, Valochnik A, Sibiryakov P, Zerkalenkova E, Olshanskaya Y, Gindina T, Movchan L, Shorikov E, Streneva O, Khlebnikova O, Makarova O, Arakaev O, Boichenko E et al. <i>Pediatr Blood Cancer</i>. 2023 Apr;70(4):e30204. doi: 10.1002/pbc.30204.</p> <p>3) Prognostic value of minimal residual disease measured by fusion-gene transcript in infants with KMT2A-rearranged acute lymphoblastic leukaemia treated according to the MLL-Baby protocol. Tsaur G, Popov A, Riger T, Kustanovich A, Solodovnikov A, Shorikov E, Demina A, Verzhbitskaya T, Streneva O, Makarova O, Lapotentova E, Aleinikova O, Miakova N, Boichenko E et al. <i>Br J Haematol</i>. 2021 Jun;193(6):1151-1156. doi: 10.1111/bjh.17304.</p> <p>4) Combination of chemotherapy and all-trans</p>
--	--	---	--	--	--

					retinoic acid for the treatment KMT2A-rearranged infant acute lymphoblastic leukemia. Results of the MLL-Baby trial. Fechina L, Popov A, Tsaur G, Henze G, Shorikov E, Makarova O, Khlebnikova O, Zhukova Y, Arakaev O, Streneva O, Verzhbitskaya T, Riger T, Solodovnikov A, Lapotentova E, Aleinikova O, Myakova N, Boichenko E et al., Leukemia. 2023 Nov;37(11):2276-2281. doi: 10.1038/s41375-023-02034-4.
--	--	--	--	--	---

Не являюсь членом экспертной комиссии ВАК. На обработку персональных данных согласна.

Доктор медицинских наук, главный внештатный детский специалист гематолог, заведующая отделением онкологии №6 СПб ГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий»

 Бойченко Эльмира Госмановна

Подпись д.м.н. Бойченко Эльмиры Госмановны заверяю:

Заместитель главного врача по кадрам
СПб ГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий»

 Максимова Вероника Вадимовна



01.12.25