

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Морозовой Елены Владиславовны на диссертационную работу Мурзабековой Марет Ахметовны «Клинико-лабораторные и генетические предикторы эффективности долгосрочной таргетной терапии первичного и вторичного миелофиброза», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови (медицинские науки).

Актуальность диссертационного исследования

Миелофиброз (МФ) представляет собой клональное заболевание, для которого характерно пролиферация стволовых гемопоэтических клеток, формирование фиброза костного мозга, спленомегалия и появление очагов экстрамедулярного гемопоэза. Несмотря на успехи терапии последних лет, обусловленные появлением таргетных препаратов, улучшением сопроводительной терапии и более высокой частотой выполняемых аллогенных трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток прогноз МФ остается крайне неблагоприятным.

За последнее десятилетие отмечено увеличение медианы выживаемости (63 против 48 месяцев), даже в случаях с неблагоприятными факторами прогноза (Masarova L. et al. Improved survival of patients with myelofibrosis in the last decade: Single-center experience. *Cancer*. 2022;128(8):1658–65. Выявление предикторов неблагоприятного течения для решения вопроса о более активной терапии является крайне важным. Классическими мутациями являются *JAK2*, *CALR* и *MPL*. Тем не менее указанные драйверные мутации не всегда относятся к первичным событиям, инициирующими развитие МФ. Исходная мутация, ответственная за запуск опухолевого процесса, до сих пор остаётся неопределённой. Однако существуют данные, подтверждающие роль мутаций генов эпигенетической регуляции, транскрипторов и сплайсинга – недриверных мутаций (НДМ), таких как *SF3B1*, *TP53*, *ASXL1*, *ETV6*, *RUNX1*, *GATA2*, *DNMT3A*, *TET2*, *IDH1/2*, *SRSF2*, *SETBP1*, *NRAS/KRAS*, *CBL*, *PTPN11*, *EZH2* в развитии и прогрессировании миелопролиферативных новообразований. В настоящее время генетическое обследование крайне важно для верификации диагноза, а также для прогнозирования клинического течения заболевания, выбора и мониторинга терапевтической тактики. Но информация о распространенности и влиянии НДМ при МФ только накапливается из-за растущего распространения таких методов, как секвенирование следующего поколения (NGS).

Активное внедрение первого таргетного препарата– ингибитора янускиназ руксолитиниба значительно изменило результаты терапии пациентов с миелопролиферативными новообразованиями (Guglielmelli P. et al 2022 г).

Однако, по-прежнему крайне мало исследований, оценивающих связь эффективности таргетной терапии с гендерно-возрастными, клинико-лабораторными и морфологическими особенностями. Практически нет в мировой практике сопоставления с цитогенетическими и молекулярно-генетическими маркерами. Ранее выявленные предикторы в основном были определены до появления руксолитиниба в клинической практике или в начале его использования. Однако этот вопрос имеет не только академический, но и практический интерес с точки зрения выбора тактики терапии. В связи с чем, актуальность проведенной диссертационной работы не вызывает сомнения.

Степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Достоверность полученных результатов характеризуется достаточным объемом и правильным формированием выборок исследования (206 пациентов, страдающих МФ в хронической фазе, получавших таргетную терапию руксолитинибом), корректным планированием, четким соблюдением критериев включения и невключения, обоснованным применением современных высокоинформативных методов исследования, соответствием принципам и методам доказательной медицины, адекватностью и соответствием имеющемуся материалу статистической обработки данных. Выводы и практические рекомендации аргументированы, логично вытекают из результатов исследования.

Научные положения, выводы и рекомендации соответствуют поставленным задачам, логически вытекают из результатов исследования и имеют подробное обоснование. Вследствие чего, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций следует считать высокой. Приложенные таблицы и рисунки детально иллюстрируют ход исследования и убедительно подтверждают логику формирования выводов и заключения автора.

Содержание диссертационной работы отражено в 7 печатных работах, из них 3 статьи в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссии Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Диссертационная работа Мурзабековой М.А. соответствует плану научно-исследовательской работы ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Достоверность положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций подтверждается достаточным объемом клинического материала, использованием современных методов лабораторной диагностики, а также корректными методами математической статистики.

Научная новизна результатов, изложенных в диссертационной работе Мурзабековой М.А., состоит в том, что были впервые в России представлены результаты долгосрочного нерандомизированного одноцентрового клинического исследования применения руксолитиниба у большой когорты пациентов с миелофиброзом, основанные на самом большом опыте применения таргетной терапии миелофиброза в Российской Федерации.

В ходе исследования определены параметры, влияющие на исход таргетной терапии миелофиброза: гендерно-возрастные, клиничко-гематологические, морфологические.

Также выявлена взаимосвязь цитогенетических и молекулярно-генетических характеристик миелофиброза, которая демонстрирует влияние на результативность терапии руксолитинибом.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению диссертации.

Диссертация написана по общепринятому плану, изложена на 152 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 59 рисунками, 6 таблицами и 1 приложением. Работа состоит из введения, обзора литературы, методологии исследования и клинических характеристик пациентов, результатов оригинальных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, который представлен 181 источником, из которых 28 – отечественные и 153 – зарубежные.

Во введении автор формулирует цель и задачи исследования. Представленная цель работы соответствует теме диссертации, а поставленные задачи обеспечивают ее реализацию. Кроме того, во введении описана актуальность и степень разработанности темы, выбранной для диссертационного исследования.

В обзоре литературы подробно описаны этиопатогенез, классификация и факторы риска миелопролиферативных заболеваний новообразований (МПН). Отдельное внимание уделено роли молекулярно-генетического исследования и наличию драйверных мутаций в генах *JAK2*, *CALR*, *MPL* и мутаций генов эпигенетической регуляции, транскрипторов и сплайсинга – недриверных мутаций (НДМ), таких как *SF3B1*, *TP53*, *ASXL1*, *ETV6*, *RUNX1*, *GATA2*, *DNMT3A*, *TET2*, *IDH1/2*, *SRSF2*, *SETBP1*, *NRAS/KRAS*, *CBL*, *PTPN11*, *EZH2*. Следует отдельно выделить тщательность выполненного литературного обзора на основе анализе современных литературных данных последних лет.

Особенности клинического материала и методов исследования описаны в главе «Материал и методы». В этой главе отображена подробная клиническая характеристика групп пациентов, клинические и лабораторные методы исследования и характеристика статистических методов обработки данных.

Третья глава содержит результаты собственного исследования и их обсуждение. В данной главе продемонстрированы результаты анализа длительного применения руксолитиниба на большой когорте больных (n= 206) в Российской Федерации. Проведена оценка гендерно -возрастных, клинико-гематологических, генетических факторов на показатели выживаемости без прогрессии (ВБП) и общей выживаемости (ОВ) пациентов с первичным и вторичным миелофиброзом, получающих таргетную терапию руксолитинибом. Автор кропотливо сравнивает влияние цитогенетических маркеров, типа драйверных мутаций, их аллельной нагрузки, мутаций высокого риска на показатели ОВ и ВБП.

В результате проведенного исследования показан оптимальный ответ на терапию, ОВ у пациентов с первичным и вторичным миелофиброзом, с резистентностью и непереносимостью медикаментозной терапии гидроксикарбамидом и интерфероном альфа-2b на фоне терапии руксолитинибом. Отмечено снижение медианы величины аллельной нагрузки *JAK2 V617F* от исходной величины более чем на 50% у половины больных.

Автором определены, что неблагоприятными факторами, влияющими на ВБП резистентных к стандартной терапии пациентов с миелофиброзом, при терапии руксолитинибом являются: возраст старше 60 лет, группа высокого риска по шкале DIPSS, предшествующая терапия гидроксикарбамидом, количество лейкоцитов перед началом терапии руксолитинибом $>15 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов $< 50 \times 10^9/\text{л}$, уровень гемоглобина $< 100 \text{ г/л}$, степень фиброза 2 или 3, отсутствие позитивной динамики аллельной нагрузки *JAK2* в процессе лечения, количество патогенных мутаций > 2 , наличие патогенной мутации *SETBP1*, имеющих неблагоприятное значение. Автор

подчеркивает, что отсутствие этих факторов, а также предшествующая терапия интерфероном альфа-2b имеют позитивное влияние на ВБП. Продемонстрировано, что наличие драйверной мутации в гене *MPL* или тройной негативный статус отрицательно влияют на выживаемость без развития бластного криза. Патогенные и неопределенные недрайверные мутации неблагоприятно влияют на бессобытийную выживаемость (за событие принято развитие бластного криза).

Предикторами снижения ОВ пациентов с первичным и вторичным миелофиброзом, получающих терапию руксолитинибом относятся: возраст старше 60 лет, группы риска промежуточный-2 и высокий согласно шкале DIPSS, вторичный характер миелофиброза (постполицитемический), количество лейкоцитов $> 15 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов $< 50 \times 10^9/\text{л}$, уровень гемоглобина < 100 г/л, степень фиброза МФЗ, тройной негативный статус, аллельная нагрузка *CALR* до начала терапии руксолитинибом $> 50\%$, отсутствие позитивной динамики аллельной нагрузки *JAK2* в процессе лечения, количество патогенных мутаций > 2 -х, наличие патогенных мутаций в генах *ASXL1* и *SETBP1*. Отсутствие этих факторов имеет позитивное влияние на ОВ. Вместе с тем, автор отмечает отсутствие достоверной разницы показателей ОВ и ВБП от исходной цитогенетической картины перед назначением руксолитиниба. Особый интерес вызывает анализ результатов терапии у пациентов с первичным и отдельно вторичным миелофиброзом, наличие влияния предшествующей терапии препаратами интерферона, а также случаи тромботических осложнений, что крайне редко анализируется в литературе. Анализ полученных данных показал, что такие факторы, как пол пациента, продолжительность МПН, наличие в анамнезе факта лечения гидроксикарбамидом, проявления симптомов опухолевой интоксикации, размеры селезенки, случаи тромбозов как до начала лечения руксолитинибом и в процессе лечения, а также линия терапии руксолитинибом (первая или последующая), не оказывают статистически значимого влияния на ОВ. Другими словами, эти факторы не являются предикторами ее показателя.

Исследование установило связь между выживаемостью без развития БК и типом драйверной мутации. Статистически значимые различия были выявлены между группами с мутациями *JAK2* и *MPL* ($p = 0,001$), *JAK2* и трижды негативным статусом (ТНС) ($p = 0,002$). Кроме того, выживаемость пациентов без прогрессии фиброза коррелировала с типом дополнительных мутаций: обнаружена связь между патогенными и доброкачественными ($p = 0,031$), неопределенными и доброкачественными мутациями ($p = 0,001$).

Несмотря на высокую эффективность руксолитиниба и других таргетных препаратов, их терапевтический потенциал ограничен, более половины пациентов

прекращают терапию в течении 3-х лет после ее инициации. Поэтому актуальным остается поиск факторов, влияющих на отсутствие ответа или потерю достигнутого эффекта от лечения. В настоящее время хорошо известны факторы, негативно воздействующие на развитие МФ, однако данных о предикторах прогноза таргетной терапии немного. Настоящее исследование позволило выявить генетические маркеры, негативно влияющие на эффективность терапии руксолитинибом, что является важным дополнением к пониманию рисков лечения миелофиброза для клиницистов.

В отличие ОВ, ВБП не зависела от наличия или отсутствия варианта драйверной мутации. Тем не менее, все пациенты с ТНС погибли в результате прогрессирования заболевания. В рамках данного исследования были выявлены статистически значимые различия ВБП среди различных групп пациентов: в зависимости от наличия позитивной динамики аллельной нагрузки *JAK2* в ходе терапии ($p < 0,05$); различий между группами патогенности дополнительных мутаций ($p < 0,05$); по количеству патогенных мутаций (1 или ≥ 2); по наличию или отсутствию патогенной мутации в гене *SETBP1* ($p = 0,003$).

При анализе современных публикаций по теме прогностических исследований при МПН можно отчетливо проанализировать важность и своевременность результатов Мурзабековой Марет Ахметовны. Так в исследовании Góra-Tybor J., опубликованном в 2023 году при анализе 230 пациентов на терапии руксолитинибом выделены только 2 фактора, связанные с редукцией селезенки на 50% к 6 месяцам терапии: уровень лейкоцитов и степень фиброза костного мозга.

В работе Gupta V. и коллег в 2021 году исследовались результаты терапии руксолитинибом в разных прогностических группах выявлен факт, что более раннее назначения препарата при установления показаний, а так пациенты с низким и промежуточным риском 1 по IPSS имели лучший ответ

В настоящее время после публикации Maffioli M. и соавторов в 2022 году возможно применение прогностической шкалы вероятности ответа на руксолитиниб, шкала была предложена после анализа терапии у 209 пациентов и включает 4 параметра: несоблюдение суточной дозы руксолитиниба более 40 мг, сохранение зависимости от переливаний эритроцитсодержащих компонентов крови к 3 и 6 месяцам, редукция селезенки к 3 и 6 месяцам и факт наличия трансфузионной зависимости при постановке диагноза.

Максимально возможное количество параметров внесено в последние прогностические модели (Tefferi A., et al. 2018), однако эти модели адаптированы для решения вопроса об алло-ТГСК и не были тестированы на больших группах пациентов, как сделано в работе Марет Ахметовны.

Таким образом, результаты исследований Мурзабековой Марет Ахметовны не только соответствуют, но и опережают по одновременному анализу количеству факторов, связанных с пациентом те данные, которые опубликованы в последние годы по тематике современного лабораторного мониторинга и определения прогноза у пациентов с МПН.

В главе «Заключение» автор подводит итог выполненной работы, обобщены данные, полученные в ходе исследования. Подобный подход демонстрирует способность автора к выполнению анализа.

Выводы и практические рекомендации построены логично на основании проведенного исследования и конкретизируют наиболее значимые научные и практические результаты работы.

Следует отдельно выделить важность исследования Марет Ахметовны, как работы по активному продвижению современных лабораторных исследований в клиническую практику. Впервые в Российской Федерации Марет Ахметовна и ее руководитель обратили внимание на необходимость изучения данного вопроса, связанного с выявлением неблагоприятного течения заболевания и улучшения результатов терапии этой группы, что само по себе является огромной заслугой автора работы и всего коллектива исследователей. Выполненная научная работа открывает большие перспективы для продолжения исследований для пациентов с МПН и уже сейчас крайне актуальна, что подтверждается большой группой обследованных пациентов.

В целом представленная диссертация выполнена на современном методическом уровне. Обзор литературы, проведенные исследования, статистический анализ свидетельствуют о хорошей теоретической и методической подготовленности автора. Диссертация оформлена в соответствии с существующими требованиями к научным квалификационным работам на соискание учёной степени кандидата наук. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации

Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе и автореферату нет.

Заключение

Диссертация Мурзабековой Марет Ахметовны «Клинико-лабораторные и генетические предикторы эффективности долгосрочной таргетной терапии первичного и вторичного миелофиброза» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной задачи - выявления факторов прогноза миелофиброза при терапии руксолитинибом, что крайне значимо для последующей выработки тактики лечения больных с данной патологией.

В диссертационный совет 21.1.025.01 на базе
ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева
Минздрава России
(117198, г. Москва, ул. Саморы Машела 1с1)

Сведения об оппоненте

по диссертационной работе Мурзабековой Марет Ахметовны на тему:
«Клинико-лабораторные и генетические предикторы эффективности долгосрочной таргетной терапии первичного и вторичного миелофиброза», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови (медицинские науки).

Фамилия, Имя, Отчество	Ученая степень, звание	Научная специальность, по которой оппонентом защищена диссертация	Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента	Список основных публикаций официального оппонента по теме диссертации в рецензируемых изданиях за последние 5 лет (не менее и не более 15 публикаций)
Морозова Елена Владиславовна	доктор медицинских наук	3.1.28. Гематология и переливание крови	Научно-исследовательский институт детской	1. Морозова Е.В. Хронический миелолейкоз: роль аллогенной трансплантации

		<p>(медицинские науки).</p>	<p>онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации</p>	<p>гемопоэтических стволовых клеток в лечении пациентов в эру ингибиторов тирозинкиназ. Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук. 2023.</p> <p>2. Morozova E. Mismatched related donor allogeneic haematopoietic cell transplantation compared to other donor types for Ph+ chronic myeloid leukaemia: A retrospective analysis from the Chronic Malignancies Working Party of the EBMT. Onida F, Gras L, Ge J, Koster L, Morozova E, [et al.] // Br J Haematol. 2024 Jun;204(6):2365-2377.</p> <p>3. Morozova E. Management and outcome of patients with chronic myeloid leukemia in blast phase in the tyrosine kinase inhibitor era - analysis of the European LeukemiaNet Blast Phase Registry. Brioli A, Lomaia E, Morozova E, , [et al.] // Leukemia. 2024 May;38(5):1072-1080.</p> <p>5. Морозова Е.В. Мутации с неясным клиническим значением: потенциальный</p>
--	--	-----------------------------	--	--

механизм развития устойчивости к ИТК у пациентов с хроническим миелоидным лейкозом? / Д.В. Кустова, А.Н. Кириенко, Морозова Е.В. [и др.] // Злокачественные опухоли. - 2023. - Т. 13. № 3S1. - С. 213-214.

6.Morozova E.V. MPN - 225 Next generation sequencing (NGS) in the diagnosis, prognosis, and features in Ph-negative myeloproliferative neoplasms / A.N. Kirienko, E.V. Petrova, D.V. Kustova, E. Efremova, E.V. Morozova [et al.] // Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia. - 2022. - Т. 22. № S2. - С. S330-S331.

7.Морозова Е.В. Секвенирование следующего поколения (NGS) в диагностике, определении и прогноза и особенностей течения заболевания у Ph-негативных пациентов с хроническими миелоидными новообразованиями / Кириенко А.Н., Мотыко Е.В., Кустова Д.В., Ефремова Е.В., Морозова Е.В. [и др.] // Вестник гематологии. - 2022. - Т. 18. № 2. - С. 57-58.

8.Morozova E. Impact of prior JAK-inhibitor therapy with Ruxolitinib on outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis: a study of the CMWP of EBMT / N. Kröger, C. Wolschke., E. Morozova [et al.] // Leukemia. 2021.

9.Морозова Е.В. Сравнительный анализ результатов лечения миелофиброза руксолитинибом либо руксолитинибом с последующей трансплантацией аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / М.В. Барабанщикова, Е.В. Морозова, Ю.Ю. Власова [и др.] Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. - 2021. - Т. 14. № 1. - С. 22-30.

10.РН-негативные миелопролиферативные новообразования: проблемы диагностики и терапии в России на примере Санкт-Петербурга / М.О. Иванова, Е.В. Морозова, М.В. Барабанщикова, Б.В. Афанасьев //

