«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
д.м.н., профессор

_____ Н.С. Грачев
26 сентября 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу «Особенности определения минимальной остаточной болезни методом многоцветной проточной цитометрии в условиях применения CD19-направленной иммунотерапии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом»

Диссертационное исследование Михайловой Екатерина Валерьевны «Особенности определения минимальной остаточной болезни методом многоцветной проточной цитометрии в условиях применения CD19-направленной иммунотерапии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом» выполнено в лаборатории иммунофенотипирования гемобластозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Михайлова Екатерина Валерьевна с отличием окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «Медицинская биофизика» в 2018 году.

В настоящее время соискатель Михайлова Е.В. работает в должности научного сотрудника (0,25 ставки) и врача клинической лабораторной диагностики (1,0 ставки) лаборатории иммунофенотипирования гемобластозов ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, г. Москва.

В период подготовки диссертации с 2021 по 2024 гг. Михайлова Е.В. работала в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России в должности научного сотрудника.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов №6 - 24 выдана федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации 26.08.2024 г.

Научные руководители – Попов Александр Михайлович, кандидат медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий лабораторией иммунофенотипирования гемобластозов;

Масчан Михаил Александрович, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель генерального директора по науке, директор Института молекулярной и экспериментальной медицины.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность темы исследования

В настоящее время происходит постепенное возрастание роли таргетной иммунотерапии при лечении острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей. В терапии В-линейного ОЛЛ широкое применение нашел препарат

биспецифического моноклонального антитела к CD19 блинатумомаб, активно внедряемый в протоколы лечения не только рецидивов и рефрактерной формы заболевания, но также и у детей в первый острый период болезни. Также всё большее распространение находит клеточная терапия с помощью Т-лимфоцитов с анти-CD19 химерным антигенным рецептором (CD19 CAR-T), позволяющая достичь МОБ-негативного статуса даже в случае крайне агрессивных химиорезистентных форм В-линейных ОЛЛ. Особенностью иммунотерапевтических препаратов является невозможность определения минимальной остаточной болезни (МОБ), важного звена мониторинга эффективности терапии, методом проточной цитометрии классическим методом, не одно десятилетие успешно применяющимся для мониторинга во время химиотерапии. По этой причине создание новой методики определения МОБ для пациентов, получающих CD19-направленную иммунотерапию, является крайне существенным направлением развития лабораторной диагностики В-линейного ОЛЛ.

Всё вышеперечисленное определяет актуальность темы диссертационного исследования, его теоретическую и практическую значимость, а также корректность поставленной цели и задач данной работы.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Автор участвовал в формулировании целей и задач диссертационного исследования. Личный вклад автора состоит в тщательном планировании научной работы, тщательном анализе научной литературы, посвященной аспектам определения МОБ при В-линейном ОЛЛ после таргетной иммунотерапии. Автором была разработана концепция и определена структура исследования, собрана исследуемая когорта пациентов, проведен анализ полученных данных, обобщение и интерпретация результатов, на основе которых сформулированы выводы, положения, выносимые на защиту, а также практические рекомендации. Полученные результаты работы автор изложил в виде научных публикаций (12 статей в рецензируемых российских

и международных изданиях) и текста диссертационного исследования. Автор участвовал во внедрении разработанной методики определения МОБ после проведения иммунотерапии в рутинную практику лаборатории иммунофенотипирования гемобластозов ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Подана заявка на патентные права. На разработанную методику автором был получен патент на изобретение Российской Федерации.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность полученных в ходе работы научных результатов подтверждается детальным сбором и анализом обширного массива как теоретических, так и практических данных с использованием соответствующей методологии, использованием в работе современных методов диагностики, применением адекватных поставленным задачам методов статистического анализа данных с применением специального программного обеспечения.

Новизна и практическая значимость исследования

Впервые на большой группе пациентов были всесторонне изучены аспекты определения остаточных опухолевых клеток методом проточной цитометрии у педиатрических пациентов с В-линейным ОЛЛ в условиях применения CD19-направленной иммунотерапии. На когорте пациентов с рецидивом или рефрактерной формой заболевания показана вероятность изменения антигенного всего профиля опухолевых клеток вплоть до смены их линейной принадлежности, а не только экспрессии CD19. Показана возможность использования комбинации альтернативных В-линейных маркеров вместо CD19 для выделения В-клеточного региона при анализе данных для поиска МОБ. Впервые в контексте определения МОБ всесторонне изучены нормальные очень ранние CD19-негативные предшественники В-клеток. В результате исследования впервые в России разработана и сформулирована методика определения МОБ при В-линейном ОЛЛ у пациентов после CD19-направленной иммунотерапии.

Ценность научной работы соискателя

Полученные результаты позволили не только создать новый лабораторный подход к определению МОБ после иммунотерапии, но и интегрировать его в рутинную работу, что помогает клиническим врачам сравнительно быстро (в течение суток) получать крайне важную информацию о количестве остаточных опухолевых клеток в костном мозге пациента и принимать на её основании своевременные решения о дальнейшей тактике лечения.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертационного исследования опубликовано 12 статей в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации основных результатов диссертационных исследований. В работах в достаточном объеме отражены результаты проведенного исследования, материалы диссертации обсуждались на международных и всероссийских научно-практических конференциях. Также автором получен патент на изобретение «Метод определения минимальной остаточной болезни методом мультипараметрической проточной цитометрии у детей и взрослых с В-линейным острым лимфобластным лейкозом в условиях применения CD19-направленной иммунотерапии» (RU 2 818 950).

Основные публикации в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России:

1. Immunophenotypic changes of leukemic blasts in children with relapsed/refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia, who have been treated with Blinatumomab / E. Mikhailova, E. Gluhanyuk, O. Illarionova, E. Zerkalenkova, S. Kashpor, N. Miakova, Y. Diakonova, Y. Olshanskaya, L. Shelikhova, G. Novichkova, M. Maschan, A. Popov // Haematologica. – 2021. – Vol. 106. – N 7. – P. 2009-2012.

2. Relative expansion of CD19-negative very-early normal B-cell precursors in children with acute lymphoblastic leukaemia after CD19 targeting by blinatumomab and CAR-T cell therapy: implications for flow cytometric detection

of minimal residual disease / E. Mikhailova, A. Semchenkova, O. Illarionova, S. Kashpor, V. Brilliantova, E. Zakharova, E. Zerkalenkova, A. Zangrando, N. Bocharova, L. Shelikhova, Y. Diakonova, V. Zhogov, R. Khismatullina, O. Molostova, B. Buldini, E. Raykina, S. Larin, Y. Olshanskaya, N. Miakova, G. Novichkova, M. Maschan, A. Popov // British Journal of Haematology. – 2021. – Vol.193. – N 3. – P. 602-612.

3. Blinatumomab following haematopoietic stem cell transplantation–a novel approach for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia in infants / A. Popov, V. Fominikh, E. Mikhailova, L. Shelikhova, G. Tsaur, Y. Abugova, E. Zerkalenkova, Y. Olshanskaya, D. Balashov, G. Novichkova, A. Maschan, N. Miakova // British Journal of Haematology. – 2021. – Vol.194. – N 1. – P. 174-178.

4. Strong expansion of normal CD19-negative B-cell precursors after the use of blinatumomab in the first-line therapy of acute lymphoblastic leukaemia in children / E. Mikhailova, J. Roumiantseva, O. Illarionova, S. Lagoyko, N. Miakova, E. Zerkalenkova, L. Zharikova, Y. Olshanskaya, G. Novichkova, M. Maschan, G. Henze, A. Karachunskiy, A. Popov // British Journal of Haematology. – 2022. – Vol. 196. – N 1. – P. e6-e9.

5. Immunophenotypic changes in leukemic blasts in children with relapsed/refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia after treatment with CD19-directed chimeric antigen receptor (CAR)-expressing T cells / E. Mikhailova, O. Illarionova, L. Shelikhova, E. Zerkalenkova, O. Molostova, Y. Olshanskaya, G. Novichkova, A. Maschan, M. Maschan, A. Popov // Haematologica. – 2022. – Vol.107. – N 4. – P. 970-974.

6. Lineage Conversion in Pediatric B-Cell Precursor Acute Leukemia under Blinatumomab Therapy / A. Semchenkova, E. Mikhailova, A. Komkov, M. Gaskova, R. Abasov, E. Matveev, M. Kazanov, I. Mamedov, A. Shmitko, V. Belova, A. Miroshnichenkova, O. Illarionova, Y. Olshanskaya, G. Tsaur, T. Verzhbitskaya, N. Ponomareva, G. Bronin, K. Kondratchik, L. Fechina, Y. Diakonova, L. Vavilova, N. Myakova, G. Novichkova, A. Maschan, M. Mashan, A. Popov // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23. – N 7. – P. 4019.

7. B-lineage antigens that are useful to substitute CD19 for minimal residual disease monitoring in B cell precursor acute lymphoblastic leukemia after CD19 targeting / E. Mikhailova, A. Itov, E. Zerkalenkova, J. Roumiantseva, Y. Olshanskaya, A. Karachunskiy, G. Novichkova, M. Maschan, A. Popov // Cytometry Part B: Clinical Cytometry. – 2022. – Vol. 102. – N 5. – P. 353-359.

8. Острый лимфобластный лейкоз с транслокацией t(17;19): надежда появилась! Описание случая мультимодальной иммунотерапии у ребенка 3 лет с рефрактерным течением заболевания / Д.В. Литвинов, И.П. Тесаков, Л.Н. Шелихова, Л.А. Хачатрян, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская, А.Ю. Комков, А.М. Попов, Е.В. Михайлова, А.Н. Ремизов, Н.В. Мякова, Ю.В. Румянцева, А.И. Карачунский // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2022. – Т. 21. – № 3. – С. 100-114.

9. Reliable flow-cytometric approach for minimal residual disease monitoring in patients with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia after CD19-targeted therapy / E. Mikhailova, O. Illarionova, A. Komkov, E. Zerkalenkova, I. Mamedov, L. Shelikhova, Y. Olshanskaya, N. Miakova, G. Novichkova, A. Karachunskiy, M. Maschan, A. Popov // Cancers. – 2022. – Vol. 14. – N 21. – P. 5445.

10. Рекомендации по определению минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии при остром В-лимфобластном лейкозе в условиях применения CD19-направленной терапии / Е.В. Михайлова, О.И. Илларионова, М.А. Масчан, Г.А. Новичкова, А.И. Карачунский, А.М. Попов // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2023. – Т. 22. – № 2. – С. 175-184.

11. Blinatumomab as postremission therapy replaces consolidation and substantial parts of maintenance chemotherapy and results in stable MRD negativity in children with newly diagnosed B-lineage ALL / E. Mikhailova, A. Popov, J. Roumiantseva, O. Budanov, S. Lagoyko, L. Zharikova, N. Miakova, D. Litvinov, L. Khachatryan, A. Pshonkin, N. Ponomareva, E. Boichenko, S. Varfolomeeva, J.

Dinikina, G. Novichkova, G. Henze, A. Karachunskiy // Journal for Immunotherapy of Cancer. – 2024. – Vol. 12. – N 6. – P. e008213.

12. Применение блинатумомаба у детей с первичным Ph-негативным В-линейным острым лимфобластным лейкозом и медленным клиренсом минимальной остаточной болезни / А.М. Попов, Ю.В. Румянцева, Е.В. Михайлова, О.И. Быданов, Е.А. Зеркаленкова, Ю.В. Ольшанская, Т.Ю. Вержбицкая, Ж.В. Пермикин, Г.А. Цаур, С.Н. Лагойко, Л.И. Жарикова, Н.В. Мякова, Н.И. Пономарева, Э.Г. Бойченко, Л.Г. Фечина, Г.А. Новичкова, А.И. Карачунский // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2024. – Т. 23. – №1. – С. 63-72.

Специальности, которым соответствует диссертация

Диссертационное исследование соответствует Паспорту специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, а именно: п. 3 «Клинико-лабораторные методы исследования для определения тяжести, периода и срока болезни, прогноза, контроля за лечением и его результатами» и п. 9 «Разработка методов иммунологических исследований. Антигены эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, белков плазмы, HLA-системы. Оценка функциональной активности клеток иммунной системы. Антитела естественные, иммунные и аутоиммунные, иммунные комплексы. Медиаторы иммунитета. Оценка иммунного статуса организма. Мониторинг иммунокоррегирующей терапии. Иммунофенотипическая характеристика клеток при заболеваниях крови. Онкоиммунология»; Паспорту специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови, а именно: п. 1 «Изучение системы кроветворения и состава крови в эксперименте и у человека (в эмбрио- и фетогенезе, в возрастном аспекте, как в норме, так и при различных патологических состояниях) с использованием морфологических, гистохимических, иммунологических, генетических, молекулярно-биологических, культуральных и других методов исследований» и п. 9 «Клеточная терапия с использованием модифицированных и/или

культивированных аллогенных или аутологичных клеточных популяций кроветворной и иммунной системы».

Диссертация Михайловой Екатерины Валерьевны «Особенности определения минимальной остаточной болезни методом многоцветной проточной цитометрии в условиях применения CD19-направленной иммунотерапии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, 3.1.28 Гематология и переливание крови.

Заключение принято на совместном расширенном заседании экспертной комиссии по лабораторной диагностике, клеточным технологиям и фундаментальным исследованиям и экспертной комиссии по гематологии, иммунологии, педиатрии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Присутствовало на заседании 20 человек, в т. ч. докторов наук по рассматриваемым специальностям 11 человек.

Результаты голосования: «за» 20 чел., «против» нет, «воздержались» нет, протокол № 4 от «05» сентября 2024 г.

Председатель заседания

Заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий, директор Управления по научно-аналитической работе с регионами ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России доктор медицинских наук, профессор

Наталия Сергеевна Сметанина

Подпись профессора Н.С. Сметаниной заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, доктор медицинских наук, доцент

Д.С. Блинов