

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заместителя директора по трансплантации, руководителя отдела детской онкологии, гематологии и трансплантологии научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Зубаровской Людмилы Степановны на диссертационную работу Махачевой Фатимы Алимпашаевны «Диагностика и лечение рецидивов и рефрактерных форм отдельных вариантов острого миелоидного лейкоза у детей», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

### **Актуальность темы исследования**

До настоящего времени лечение острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) у детей не имеет удовлетворяющих уровню достижений современной онкологии, гематологии результатов по сравнению с острым лимфобластным лейкозом и остается одной из основных причин детской смертности.

Применение разработанных ведущими международными исследовательскими группами протоколов позволило достичь уровня бессобытийной выживаемости (БСВ) 49-57%, общей выживаемости (ОВ) 62%-74%. Химио- и иммунотерапия наряду с совершенствованием технологии аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – потенциально излечивающий метод лечения, наилучшим способом обеспечивают долгосрочную ремиссию заболевания для детей с ОМЛ высокой группы риска. В ряде исследований показано, что у пациентов получивших алло-ТГСК риск рецидива снижается на 20-30%, по сравнению с теми, кто получил только интенсивную терапию в качестве консолидации ремиссии. Однако высокий риск рецидива у данной категории пациентов остаётся проблемой, а изучение факторов риска и разработка способов преодоления резистентности ввиду клональной эволюции злокачественного пула клеток сохраняют свою актуальность. Показателем, определяющим этот параметр, является статус минимальной определяемой болезни (МОБ), определяемый на основе мультипараметрической проточной цитометрии (чувствительность метода 0,1 - 0,01%), определение рекуррентных генетических аномалий с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) (чувствительность метода до 0,001%), однако может быть применима только в 50–60% случаев ОМЛ у детей. Таким образом,

существует потребность в исследовании новых универсальных маркеров ОМЛ. Терапия рецидива с целью индукции ремиссии всегда сопряжена со сложностью достижения второй ремиссии ОМЛ, зачастую сопровождается развитием осложнений токсического и инфекционного характера. В этой связи имеет значение поиск путей уменьшения риска высокой предлеченности, наиболее эффективных комбинаций цитостатических и таргетных препаратов ввиду планируемой в большинстве случаев алло-ТГСК у данной категории пациентов.

### **Научная новизна**

Научная новизна работы Махачевой Ф.А. не вызывает сомнений. Впервые проведен анализ клональной эволюции злокачественных клеток у детей на основании изучения клинико-морфологических и иммунологических характеристик у детей с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ. С целью терапии рецидива оценены различные варианты современных программ с включением цитарабина, флюдарабина, таргетных препаратов и эпигенетического воздействия, определены частота достижения ремиссий и выживаемости. Эффективность аллогенной ТГСК в качестве консолидации ремиссии создает основу для разработки стратегии лечения р/р ОМЛ у детей.

### **Обоснованность и достоверность полученных результатов, обоснованность выводов и практических рекомендаций**

Представленная диссертационная работа выполнена на высоком теоретическом и методическом уровне, включающем анализ данных 54 пациентов в возрасте  $9,2 \pm 4,6$  лет с рецидивирующим или рефрактерным течением ОМЛ. Сбор, систематизация и анализ полученной информации соответствовал современным требованиям. Диагностическая составляющая исследования выполнена на современном уровне с использованием метода 3–8 цветной проточной цитометрии на приборах BD FACS Canto II и FACScan (Becton, Dickinson США). С 2013 года диагностические подходы базировались на 8-цветной концепции Euroflow.

Среди основных положений исследования можно выделить данные, свидетельствующие об иммунофенотипической нестабильности злокачественного клона по сравнению с *de novo* ОМЛ. Несмотря на эволюционную составляющую и формирование резистентности к стандартной противоопухолевой терапии, благоприятные прогностические цитогенетические аберрации [*t(8;21)(q22;q22)*, *inv(16)(p13.1q22)*, *t(16;16)(p13.1;q22)*], изолированный костномозговой рецидив и достижения ремиссии на 15-й день терапии сохраняют большую эффективность в процессе лечения. Наиболее эффективными программами лечения рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ являются

схемы, состоящие из двух противорецидивных флударабин/цитарабин-содержащих циклов. Частота полных ремиссий в группе FLA+FLA – 81,8%, в группе HAM+FLA - 40%. Пятилетняя общая выживаемость в группе FLA+FLA составила 36,4%, HAM+ FLA - 48% ( $p>0,05$ ). Включение в программы лечения наряду с эпигенетическими препаратами трансплантации гемопоэтических стволовых клеток существенно улучшает результаты терапии. Десятилетняя общая выживаемость в группе с алло-ТГСК составила 51,4%, в группе с ауто-ТГСК – 37,5%.

Все данные статистически обработаны с помощью современных методов с использованием пакета компьютерных программ SPSS 21.0 for Windows.

Таким образом, высокий научно-профессиональный уровень проведения исследования и изложения полученных данных дает основание считать результаты, представленные исследователем, достоверными.

Выполненная работа дает ответы на важные практические вопросы современного лечения детей с рефрактерными/рецидивирующими формами ОМЛ.

Выводы и практические рекомендации логичны и полностью обоснованы полученными результатами. Их обоснованность подтверждается реальной практической реализацией.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа написана в традиционном стиле, изложена на 122 страницах, включающих введение, обзор литературы, характеристику пациентов и методов лечения, результаты представлены в 3 главе – изменение иммунофенотипа злокачественных клеток при рецидиве острого миелоидного лейкоза у детей, главе 4 – эффективность терапии рецидивов и рефрактерных форм острого миелоидного лейкоза у детей, заключения, выводов, практических рекомендации и списка литературы. Диссертационная работа иллюстрирована 19 таблицами и 27 рисунками. Список литературы содержит 117 источников, из которых 7 отечественных и 110 зарубежных.

В разделе «Введение» автором четко сформулирована актуальность, цель и задачи исследования, конкретизирована его важность для разработки новых подходов к лечению.

Обзор литературы содержит современные данные о патогенезе развития острого миелоидного лейкоза, непосредственной связи с мутациями I типа - генов, участвующих в трансдукции сигнальных путей и II типа, генов транскрипционных факторов. Представлены данные о принципах стратификации на группы риска в различных исследовательских протоколах, подчеркнута, что большое разнообразие этих критериев свидетельствует об отсутствии общепринятого стандарта разделения пациентов с ОМЛ.

Интенсификация традиционных химиотерапевтических режимов достигла порога допустимой эскалации и находится на пределе переносимости, что требует более широкого внедрения новых таргетных препаратов. Рецидив остается самым важным фактором прогноза, результаты лечения изучены в зависимости от варианта используемых протоколов, в том числе в зависимости от применения комбинаций различных цитостатических препаратов – цитарабин, флюдарабин, кладрибин, клофарабин, препаратов эпигенетического воздействия, моноклональных антител.

Материалы и методы исследования описаны во второй главе. В исследование включено 54 ребенка с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ. Подробно представлены критерии включения и исключения пациентов, методы иммунофенотипирования бластных клеток костного мозга. До начала терапии пациенты обследованы на основе современных клинических стандартов, включая оценку вовлечения ЦНС. Представлены сравниваемые протоколы индукции 2-ой ремиссии – два курса FLA (2FLA); HAM с флюдарабином и вепезидом; HAM и FLA; FLA с азациитидином, азациитидин в монорежиме, цитарабин в сочетании с L-аспарагиназой и азациитидином, FLA с бортезомибом, цитарабином и даунорубицином, том числе на основе возраста и групп риска по FAB-классификации, сроков возникновения рецидива. Представлены варианты консолидации ремиссии, включающие гапло-ТГСК, ауто-ТГСК, поддерживающую терапию.

В 3 главе приведены результаты, касающиеся изучения изменения иммунологического фенотипа лейкоэмических клеток при инициальной диагностике и в рецидиве ОМЛ. Автором показано, что в 80,7% происходит изменение иммунологических маркеров. При этом экспрессия антигенов CD13, CD7 в рецидиве достоверно ассоциирована с первичным иммунофенотипом (точный критерий Фишера,  $p = 0,012$ ), CD56, CD64 в случае отсутствия при инициальном иммунофенотипировании, не определялись и в рецидиве ( $p = 0,041$ ), ( $p = 0,006$ ) соответственно. В тоже время антиген CD19, а также экспрессия антигена CD34 при диагностике не были достоверно ассоциированы с таковой при рецидиве ОМЛ,  $p = 0,131$ . Также показано, что из проанализированных наиболее «стабильными» оказались антигены CD13, CD56, CD64, CD7, CD117. В результате обсуждения полученных данных выявлено свидетельство в стабильности экспрессии ряда антигенов при развитии рецидива ОМЛ у детей. Важно – это может служить основой для определения глубины ремиссии и уровня минимальной остаточной болезни.

В 4 главе представлены данные эффективности терапии изучаемой группы пациентов. Показана достоверная эффективность от включения эпигенетических

препаратов (азацитидин, децитабин, вальпроевая и полностью транс-ретиноевая кислоты) ( $p=0,003$ ) в достижении 2-ой ремиссии у пациентов с ОМЛ. Общая выживаемость зависела от прогностической группы и составила 60% и 27% при благоприятной и неблагоприятной группах, соответственно. В тоже время частота полных ремиссий в группе FLA+FLA – 81,8%, в группе HAM+FLA - 40%. При анализе схем терапии наилучшие результаты достигнуты при применении 2 FLA – общая выживаемость  $36,4\pm 14,5\%$ , наименьшая эффективность при HAM + флюдарабин + вепезид – общая выживаемость  $21,1\pm 9,4\%$ . Несмотря на большую вероятность достижения ремиссии эпигенетические препараты не влияли на общую выживаемость, в то время как проведение алло-ТГСК существенно повышало эффективность лечения – 51,4% (с алло-ТГСК) и 0% (без алло-ТГСК) ( $p=0,001$ ).

В заключении выполнен подробный анализ с обсуждением на основе данных, полученных из литературных источников. Необходимо отметить, что каждая из глав, представляющих собственные данные, также сопровождается коротким обсуждением полученных результатов.

В выводах диссертации, следующих из полученных результатов, автор сформулировала основные научные положения работы, соответствующие выполненным целям и задачам исследования. Автореферат диссертации отражает основные положения и результаты диссертации. Полученные результаты диссертации отражены в 6 печатных работах, из них 2 научные статьи опубликованы в ведущих российских изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки.

Принципиальных замечаний по выполненной работе нет, но в результате ознакомления возникли следующие вопросы:

1. Какое место в программе лечения рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ занимают молекулярно-направленные препараты (венетоклакс, милотарг)?
2. Могут ли молекулярно-направленные препараты, используемые в настоящее время в лечении ОМЛ, заменить трансплантационные подходы?
3. Какие результаты применения CAR-T-клеточных технологий в лечении рецидивов и рефрактерных форм у детей?

#### **Научно-практическая значимость и внедрение результатов исследования**

Результаты, полученные в ходе исследования, позволили Махачевой Ф.А. сформулировать практические рекомендации, где выделены дополнительные неблагоприятные параметры, которые наряду с традиционными факторами риска могут составить основу новой прогностической модели, позволяющей на ранних этапах

определить крайне неблагоприятную группу больных, что в свою очередь является показанием к модификации терапии и повышению ее эффективности у пациентов с р/р ОМЛ. В соответствии с выполненным сравнительным анализом между основными флударабин- и цитарабинсодержащими (2FLA; HAM + флударабин + вепезид; HAM + FLA; FLA + азацитидин) противорецидивными программами терапии ОМЛ определены наиболее эффективные. Оценка эффективности использования противорецидивной полихимиотерапии (ПХТ) в комбинации с эпигенетическими агентами (5-азацитидин, децитабин, вальпроевая и полностью транс-ретиноевая кислоты) позволила сформулировать рекомендации по обязательному включению препаратов с эпигенетическим действием в лечение детей с р/р ОМЛ. Отражена значимость алло-ТГСК в лечении пациентов с р/р ОМЛ и определены оптимальные сроки ее проведения - не позднее 14 недель от начала программного лечения. Полученные результаты диссертационного исследования весьма значимы для практического здравоохранения, поскольку определяют и позволяют использовать наиболее эффективные подходы в лечении р/р ОМЛ.

Основные положения диссертации доложены на всероссийских конференциях: VI Съезд детских онкологов России с международным участием (2015), Третий Всероссийский педиатрический форум студентов и молодых ученых с международным участием (2022); II Мультицентровая встреча «Российской группы ВФМ» (2022).

Результаты диссертационной работы внедрены в практическую работу НИИ детской онкологии и гематологии им. академика Л.А. Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

### **Заключение**

Диссертационная работа Махачевой Фатимы Алимпашаевны «Диагностика и лечение рецидивов и рефрактерных форм отдельных вариантов острого миелоидного лейкоза у детей», является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком теоретическом и методическом уровне, в которой решена актуальная задача в области онкологии – улучшение показателей выживаемости у детей с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ. По своей актуальности, уровню и объему проведенных исследований, научной новизне полученных результатов и их практической значимости, способу решения поставленных задач диссертационная работа Махачевой Ф.А. полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства

