

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу
Вшивковой Ольги Сергеевны
«Аберрации гена транскрипционного фактора *IKZF1*
при В-линейных острых лимфобластных лейкозах»,
представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
14.01.21 – гематология и переливание крови**

Соответствие диссертации специальностям и отрасли науки, по которым она представлена к защите со ссылкой на область исследования паспорта соответствующей специальности, утвержденного ВАК

Диссертационная работа Ольги Сергеевны Вшивковой посвящена разработке методических подходов и изучению вариабельности гена транскрипционного фактора *IKZF1* (Ikaro) и его продуктов при В-линейных острых лимфобластных лейкозах у детей и молодых людей для прогнозирования раннего ответа на терапию и развития рецидивов.

Представленная диссертационная работа по своему содержанию, поставленной цели и решаемым задачам, а также объектам и методам исследования соответствует специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови и отрасли биологические науки. Область исследования (по паспорту специальности): 2. Этиопатогенез, лабораторная и инструментальная диагностика заболеваний крови и кроветворных органов (наследственных и приобретенных, у взрослых и детей).

Актуальность темы диссертации

Снижение количества рецидивов после корректно подобранного лечения В-линейных острых лимфобластных лейкозов способствует увеличению долгосрочной выживаемости пациентов детского и молодого взрослого возраста с указанным диагнозом. В тоже время имеющаяся высокая частота рецидивов требует поиска новых прогностических факторов возврата заболевания с последующей корректировкой лечения. Поэтому не вызывает сомнений актуальность темы представленной диссертации, сосредоточенной на изучении гена опухолевого супрессора *IKZF1*, аберрации которого, по известным данным, вовлечены в патогенез и прогрессирование лимфобластного лейкоза.

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту

Все данные, представленные в диссертации, обладают высокой степенью новизны, т.к. впервые получены в результате проведения оригинальных комплексных исследований внутригенных делеций и экспрессии изоформ опухолевого супрессора *IKZF1*, анализу их связи с

клиническими характеристиками и ответом на терапию. Проведенные исследования пациентов подкреплены экспериментальной работой *in vitro* по созданию и анализу новых трансгенных модельных клеточных линий.

Особенно важными представляются следующие результаты диссертационной работы О.С.Вшивковой:

1. Автором изучены и представлены описания частоты и разнообразия внутригенных делеций *IKZF1*, а также профиля экспрессии изоформ этого гена при В-линейных острых лимфобластных лейкозах; установлено, что у пациентов с данным заболеванием наблюдается повышенная (аберрантная) экспрессия трех коротких изоформ *IKZF1*: Ik 6, 9 и 10, – которая ассоциирована с внутригенными делециями.

2. Разработан эффективный метод определения внутригенных делеций *IKZF1* при В-клеточных острых лимфобластных лейкозах, который основан на использовании мультиплексной ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени; показана высокая диагностическая значимость, воспроизводимость и экономическая эффективность разработанного метода.

3. Установлена прогностическая значимость aberrаций гена *IKZF1* (внутригенных делеций и aberrантной экспрессии коротких изоформ *IKZF1*) по отношению к раннему развитию первого рецидива у пациентов с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом.

4. Созданы 2 трансгенные модели лейкозных линий клеток человека с повышенной экспрессией Ik 6 и Ik 9 изоформ *IKZF1*; с использованием иммуноцитохимического анализа показана aberrантная цитоплазматическая локализация этих коротких изоформ *IKZF1*, что свидетельствует о нарушении функций гена при формировании коротких изоформ; обнаружено изменение чувствительности трансгенных линий к химиотерапевтическим препаратам, что может иметь значение при формировании ответа на терапию и развитии рецидивов заболевания.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Положения, выносимые на защиту, заключительные выводы и рекомендации, сформированные автором, подтверждены проведенными исследованиями на большом объеме биологического материала с использованием адекватных статистических методов. Диссертационная работа представлена последовательными этапами, каждый из которых является логическим продолжением предыдущего и в комплексе составляет цельное научное исследование с обоснованными и достоверными выводами и рекомендациями.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию

Представленные результаты несомненно имеют высокую научную, практическую, социальную и экономическую значимость, что хорошо отражено по тексту диссертации.

Научная значимость диссертации заключается в следующем:

- получении новых знаний о вариабельности и существующих различиях в экспрессии изоформ гена *IKZF1* в моноклеарных клетках в норме и в лейкозных клетках пациентов с В-линейными острыми лимфобластными лейкозами; при этом выделены 3 короткие изоформы, значимые при лимфобластных лейкозах, и введен новый термин "Ik-DN" для обозначения совокупности этих доминантно-негативных изоформ;
- установлении связи между aberrантной экспрессией короткой изоформы Ik 6 и изменением чувствительности лейкозных линий клеток человека к химиотерапевтическим препаратам;
- установлении значимости aberrаций гена *IKZF1* (внутригенных делеций и aberrантной экспрессии коротких изоформ *IKZF1*) для прогноза раннего развития первого рецидива у пациентов с В-клеточными острыми лимфобластными лейкозами.

Практическая значимость результатов диссертации определяется разработкой инструкции по применению, двумя рационализаторскими предложениями, заявкой на изобретение. Применение результатов диссертации подтверждается 4 актами о внедрении в практику РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Экономическая значимость результатов работы отражена в самой диссертации, в подразделе 6.6. «Экономическая эффективность предотвращения рецидива В-линейного острого лимфобластного лейкоза вследствие оценки статуса *IKZF1*». Представленная информация не вызывает сомнений и тесно связана с социальной значимостью результатов.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

Результаты и выводы диссертационного исследования опубликованы в 21 печатной работе, включая 5 статей в изданиях, соответствующих требованиям пункта 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь. Среди них 3 работы опубликованы на английском языке в дальнем зарубежье. Общий объем публикаций составляет 7,2 авторских листа. Кроме того, результаты диссертации вошли в 1 инструкцию по применению, 2 рационализаторских предложения и 1 заявку на изобретение.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Рукопись диссертации и ее автореферат оформлены в соответствии с требованиями ВАК Республики Беларусь. Диссертация состоит из оглавления, вводной части по используемым терминам и сокращениям, введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, материалов и методов исследований, четырех глав собственных исследований, заключения, списка использованных источников, включая

список публикаций соискателя степени, а также 8 приложений, содержащих копии документов или их титульных листов, подтверждающих практическое использование результатов диссертации. Список использованных источников включает наименования 79 цитируемых работ и 25 научных работ соискателя степени.

Замечания по диссертации (при их наличии), если они не указываются в структурных элементах отзыва о диссертации

При тщательном ознакомлении с рукописью диссертации возникли следующие замечания, пожелания и вопросы:

- В тексте диссертации и автореферата используется старая аббревиатура гена каталитической субъединицы ДНК-зависимой протеинкиназы (*DNA-PK* вместо *PRKDC*), что не является грубой ошибкой. Однако желательно в презентации на официальной защите указать наравне со старым новое сокращенное название гена (*PRKDC*).
- По тексту диссертации отсутствует описание того, как получено значение воспроизводимости метода при оценке aberrаций гена *IKZF1* с использованием мультиплексной ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени. Кроме того, в таблице 3.7 представлены результаты расчета коэффициента вариации, который отражает воспроизводимость метода, однако в тексте диссертации отсутствует описание полученного результата расчета воспроизводимости.
- На стр. 72 диссертации указано: «Оценка точности и сходимости результатов теста была проведена [...] одним лаборантом на одном приборе». Корректным считаю использовать словосочетание «одним исследователем».

Перечисленные замечания ни в коей мере не снижают значимости выполненной работы и ее общей высокой оценки.

Соответствие (несоответствие) научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Диссертационная работа Ольги Сергеевны Вшивковой «Аберрации гена транскрипционного фактора *IKZF1* при В-линейных острых лимфобластных лейкозах» представляет собой самостоятельно выполненное квалификационное и законченное научное исследование, соответствующее требованиям, установленным главой 3 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь».

Искомая ученая степень кандидата биологических наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови может быть присуждена соискателю степени за:

1) описание вариабельности и определение особенностей экспрессии изоформ гена *IKZF1* при В-линейных острых лимфобластных лейкозах; выявление 3 клинически значимых коротких изоформ *IKZF1* (Ik 6, 9 и 10), разработку, апробацию и внедрение метода их анализа;

2) установление связи между aberrантной экспрессией короткой изоформы Ik 6 и изменением чувствительности лейкозных линий клеток человека к химиотерапевтическим препаратам;

3) доказательство значимости aberrаций гена *IKZF1* (внутригенных делеций и aberrантной экспрессии коротких изоформ *IKZF1*) для прогноза раннего развития первого рецидива у пациентов с В-линейными острыми лимфобластными лейкозами.

Заведующий лабораторией
молекулярных основ стабильности генома
государственного научного учреждения
«Институт генетики и цитологии
Национальной академии наук Беларуси»,
кандидат биологических наук

Н.И.Рябокoнь

29.01.2024

Тюгніс Н.І. Р'ябокoнь

ЗАТВЕРДЖАЮ

Вучоны сакратар

" 29 "

01

2024 г.

