

Отзыв

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

*Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по
которым она представлена к защите*

Диссертационная работа Вшивковой Ольги Сергеевны по теме исследования, цели и задачам, объектам и предмету исследования, по выдвинутым на защиту положениям, основным результатам и выводам полностью соответствуют паспорту специальности 14.01.21 – «гематология и переливание крови» и отрасли – биологические науки.

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Вшивковой Ольги Сергеевны посвящена поиску факторов, позволяющих выявить пациентов с В-ОЛЛ с неблагоприятным исходом после проведенной терапии, что является актуальной проблемой. Известно, что современные режимы интенсивной химиотерапии позволяют достигать высоких показателей выживаемости пациентов с В-ОЛЛ, однако исход заболевания сложно прогнозировать, рецидивы развиваются в 15-20% случаев. В настоящее время широко обсуждается вопрос о значимой роли аберраций гена транскрипционного фактора *IKZF1* в патогенезе и прогрессировании В-ОЛЛ. Проблемой остается диагностика *IKZF1* в клинических условиях: вариабельность точки разрыва на хромосоме при делециях снижает чувствительность геномных методов и не позволяет оценить весь спектр значимых молекулярных событий.

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, которые выносятся на защиту диссертации.

В диссертационной работе Вшивковой Ольги Сергеевны получено много новых, интересных и важных результатов.

Прежде всего - это идентификация и количественный анализ изоформ гена *IKZF1* в лейкозных клетках и моноклеарных клетках доноров костного мозга и установление факта, что для пациентов с В-ОЛЛ характерна повышенная экспрессия только трех коротких изоформ.

Новым является и разработанный соискателем способ определения aberrаций гена *IKZF1*, включающий количественную оценку уровня экспрессии трех клинически значимых коротких доминантно-негативных изоформ в единой полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени.

Новым и ценным для медицинской практики является установление факта, что aberrация гена *IKZF1* при В-ОЛЛ может служить независимым прогностическим фактором развития первого рецидива для пациентов группы стандартного риска с преобладанием ранних рецидивов.

Соискателем, вынесены на защиту 4 положения, которые базируются на результатах проведенного экспериментального исследования и подробно раскрыты как в представленной научно-исследовательской работе, так и в опубликованных соискателем материалах.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Сформулированные в диссертации выводы обоснованы и вытекают из представленных результатов экспериментальных исследований. Представленные в диссертации результаты экспериментов по их количеству и качеству достаточны для анализа, научных обобщений и объективных выводов. Высокий уровень проведенных исследований виден из результатов, представленных в 34 таблицах и на 36 рисунках. Статистическая обработка данных подтверждают достоверность полученных результатов. Сделанное на основе выводов заключение обосновано и в целом соответствует материалам диссертации и публикациям автора. Содержание автореферата полностью соответствует материалам, представленным в диссертации.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации и рекомендации по их использованию

На основании анализа представленных в диссертации и автореферате результатов можно заключить, что полученные результаты являются не только новыми, но и значимыми для современной онкогематологии.

Научная значимость диссертации Вшивковой Ольги Сергеевны определяется следующим. Полученные в диссертации результаты являются основой для более глубокого понимания патогенеза лейкозов при аберрациях *IKZF1*. Получены новые знания о том, что для лейкозных клеток пациентов с В-ОЛЛ в сравнении с моноклеарными клетками доноров костного мозга характерна повышенная экспрессия трех коротких изоформ Ik-DN (Ik 6, 9 и 10). Повышенная экспрессия изоформы Ik 6 ассоциирована с наличием делеции Ex1-6, экспрессия Ik 6 + Ik 9 – с наличием делеции Ex3-6, экспрессия Ik 10 может выявляться при любой из описанных делеций. Соискатель установила, что частота делеций *IKZF1* в исследованной группе пациентов детского и молодого взрослого возраста с первичными В-ОЛЛ составила 6,4 %, частота аберрантной экспрессии Ik-DN – 10,5%. При наличии хотя бы одного события делеции или повышенной экспрессии Ik-DN транскрипционный фактор *IKZF1* следует считать аберрантным.

Наряду с фундаментальным характером выполненного исследования очевидна ***практическая, экономическая и социальная значимость*** результатов диссертационной работы. ***Практическая значимость*** диссертации заключается в следующем:

Во-1-х, установлено, что метод оценки экспрессии изоформ Ik 6, 9 и 10 в мультиплексной ОТ-ПЦР в реальном времени является наиболее эффективным подходом для выявления аберраций *IKZF1*. Метод обладает высокой диагностической значимостью. Во-2-х, показано, что пациентам с В-ОЛЛ целесообразно определение аберраций *IKZF1* на этапе

первичной диагностики с целью стратификации на группы прогноза рецидива заболевания. Аберрации *IKZF1* может служить маркером для отслеживания минимальной остаточной болезни.

Полученные соискателем результаты использованы для создания инструкции по применению «Метод определения внутригенных делеций в гене *IKZF1* при В-клеточных острых лимфобластных лейкозах у детей и молодых взрослых», которая утверждена МЗ РБ в 2019 году.

Экономическая и социальная значимость выполненного исследования обусловлена разработкой и внедрением в практику указанных выше методов. Экспериментальные данные и методические приемы, изложенные в диссертации, могут быть использованы в учреждениях здравоохранения нашей страны при лабораторной диагностике острых лимфобластных лейкозов, а также в образовательном процессе в ВУЗах медицинского и медико-биологического профилей РБ.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, из них 5 статей в рецензируемых научных журналах, находящихся в перечне ВАК РБ, 4 статьи в других журналах и в сборнике научных конференций и 12 тезисов докладов. Общий объем опубликованных материалов составляет 7,2 авторских листа, что полностью соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь.

Степень опубликованности основных положений и полученных результатов диссертационной работы в научных рецензированных изданиях является достаточной. Также достаточной является и апробация результатов работы на научных конференциях..

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Относительно оформления работы можно сказать следующее. Диссертационная работа изложена на 111 страницах, оформлена по традиционному типу и состоит из введения, общей характеристики работы,

литературного обзора (глава 1), главы, посвященной изложению материалов и методов исследования (глава 2), четырех глав, содержащих результаты собственных исследований и их обсуждение (главы 3-6), заключения, списка использованных источников и приложения (на 10 страницах). Диссертация очень хорошо иллюстрирована.

В обзоре литературы (18 страниц) соискатель проанализировала литературные сведения о гене *IKZF1*, о структуре и функции доменов «цинковых пальцев», о функционировании *IKZF1* как транскрипционного фактора, приведены литературные данные об исследовании функций *IKZF1* на нокаутных мышинных моделях, Большое внимание соискатель уделила характеристике структурных нарушений *IKZF1* и прогностическому значению aberrаций *IKZF1*. Из анализа литературы следовало, что ген транскрипционного фактора *IKZF1* осуществляет контроль Т- и В-клеточной дифференцировки, функционирует как супрессор лимфоидных опухолей. Разнообразны структурные и известны функциональные aberrации, приводящие к дисфункции белка *IKZF1*. И хотя исследования клинического значения aberrаций *IKZF1* продолжаются 2 десятилетия, проблемой оставалась диагностика полного спектра aberrаций гена *IKZF1* у пациентов с В-ОЛЛ, вклада aberrаций гена *IKZF1* в процессы патогенеза и прогрессирования В-ОЛЛ.

При чтении 2-й главы диссертации «Материалы и методы исследования» видно, что соискателем для решения поставленных задач были тщательно подобраны группы пациентов. В исследование включены 319 пациентов с В-ОЛЛ, проходивших диагностику и лечение в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» с июля 2002 года по декабрь 2017 года. Впечатляет многообразие как материалов, так и использованных современных молекулярно-генетических методов исследования. Это говорит о высокой квалификации соискателя. Благодаря использованию

различных подходов к решению проблемы и применению современных методов статистического анализа автору удалось получить значимые результаты.

Представленные в главах 3-6 экспериментальные результаты позволили соискателю экспериментально доказать, что для лейкозных клеток пациентов с В-ОЛЛ в сравнении с моноклеарными клетками доноров костного мозга характерна повышенная экспрессия трех коротких изоформ I κ -DN (I κ 6, 9 и 10). Соискатель установила частоту делеций IKZF1 в исследованной группе пациентов детского и молодого взрослого возраста с первичными В-ОЛЛ, частоту aberrантной экспрессии I κ -DN. При наличии хотя бы одного события делеции или повышенной экспрессии I κ -DN транскрипционный фактор IKZF1 следует считать aberrантным.

О новизне, научной, практической и социальной значимости полученных результатов уже сказано выше.

При рассмотрении и анализе представленных в диссертации экспериментальных данных возникли небольшие вопросы и замечания.

1. В положении 3, выносимом на защиту, соискатель, суммируя результаты полученные при изучении модельных клеточных линий K=562^{I κ -6} и Nalm-6^{I κ -6}, говорит об идентичности изменений чувствительности к воздействию ингибиторов тирозинкиназ и глюкокортикоидов, но подчеркивает, что «процессы, задействованные в модификации лекарственной устойчивости в двух типах лейкозных клеточных линий, отличаются». Хотелось бы подробнее узнать об этих процессах.

2. В главе 4 при описании частоты и типов aberrации гена IKZF1 при В-клеточных острых лимфобластных лейкозах соискатель приводит несколько таблиц и рисунков, но таблица 4.1(с.77) и таблица 4.4 (с.82) мало информативны.

3. В резюме автореферата среди ключевых слов находится слово «Ikaros», которое в тексте резюме не упоминается.

Высказанные замечания ни в коей мере не умаляют общей **высокой оценки** рассматриваемой диссертационной работы.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Представленные в диссертации материалы свидетельствуют о том, что научная квалификация соискателя высокая и полностью соответствует ученой степени кандидата биологических наук, на которую она претендует.

Диссертационная работа Вшивковой Ольги Сергеевны «Аберрации гена транскрипционного фактора *IKZF1* при В-линейных острых лимфобластных лейкозах» является завершенным, самостоятельно выполненным научным исследованием, содержащим научные результаты, соответствующие критериям новизны, научной, практической и социально-экономической значимости.

Ученая степень кандидата биологических наук по специальности 14.01.21 – «гематология и переливание крови» может быть присуждена Вшивковой Ольге Сергеевне за совокупность новых научных результатов по актуальному научному направлению в онкогематологии, включающих:

- идентификацию и количественный анализ изоформ гена *IKZF1* в лейкозных клетках и моноклеарных клетках доноров костного мозга и установление повышения экспрессии трех коротких изоформ для пациентов с В-ОЛЛ;

- установление, что аберрации гена *IKZF1* при В-клеточных острых лимфобластных лейкозах являются независимым прогностическим фактором развития первого рецидива для пациентов группы стандартного риска;

- обнаружение факта, что для лейкозных клеточных линий с аберрантной экспрессией короткой изоформы Ik 6 свойственны идентичные изменения чувствительности к воздействию иматиниба и глюкокортикоидов, но процессы, приводящие к модификации лекарственной устойчивости, в двух типах клеточных линий отличаются;

- разработку и внедрение в клиническую практику метода определения внутригенных делеций в гене *IKZF1* при В-клеточных острых лимфобластных лейкозах у детей и «молодых взрослых».

Главный научный сотрудник
лаборатории медицинской
биофизики ГНУ «Институт биофизики
и клеточной инженерии НАН Беларуси»
д.б.н., профессор, член-корр.НАНБ

Слобожанина - Е.И.Слобожанина

29.01.2024 г.

