

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета послевузовского образования имени профессора Б.В. Афанасьева федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующего лабораторией цитогенетики и диагностики генетических заболеваний «Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой» федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Клеиной Елизаветы Вячеславовны на тему «Генетическая стратификация и особенности клинического течения мантийноклеточной лимфомы», представленную к официальной защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 – гематология и переливание крови

Актуальность темы диссертации

Мантийноклеточная лимфома (МКЛ) представляет собой агрессивную В-клеточную лимфому с транслокацией $t(11;14)(q13;q32)$, в результате которой происходит конститутивная гиперэкспрессия циклина D1 и нарушение регуляции клеточного цикла на стадии G1/S. Клиническое течение МКЛ варьирует от быстропрогрессирующих до индолентных форм,. Проводимые в последние десятилетия клинические исследования показали высокую гетерогенность МКЛ и позволили существенно продвинуться в понимании молекулярно-биологических особенностей её патогенеза. В частности, появились новые данные об альтернативных транслокациях с повреждением генов *CCND2*, *CCND3*, каппа *IGκ* и лямбда *IGλ* цепей

иммуноглобулинов; о новых путях нарушения регуляции циклина D1 посредством транслокации и амплификации того же аллеля; о независимой от транслокации $t(11;14)$ экспрессии циклина D1; о гене $N-MYC$, выступающем в качестве онкогена при МКЛ и другое. Например, было показано, что МКЛ относится к одной из В-клеточных лимфом с самой высокой частотой встречаемости генетической нестабильности клеток опухолевого клона, сочетающейся со значительным количеством вторичных генетических aberrаций и хромосомных нарушений. В свою очередь, вторичные генетические события могут увеличивать онкогенный потенциал циклина D1, инактивировать пути репарации поврежденной ДНК (ATM/CHK2/p53) что, способствует более агрессивному течению заболевания. Особый интерес вызывает высоко агрессивная подгруппа, «double-hit» МКЛ, которая характеризуется сочетанием транслокаций генов $CCND1$ и MYC , плеоморфным или бластоидным морфологическим вариантами опухоли и её рефрактерным течением.

Таким образом, изучение генетических характеристик опухолевых клеток, в том числе «double-hit» МКЛ с определением их прогноза является крайне актуальной задачей. В России подобное исследование ранее не проводилось, а данные по международным исследованиям ограничены.

Научная новизна результатов диссертационного исследования

Впервые на отечественной популяции пациентов с МКЛ были получены данные о частоте встречаемости и прогностической значимости транслокации $t(11;14)(q13;q32)$, комплексного кариотипа, нарушений гена MYC , делеции гена $TP53$ или моносомии хромосомы 17 у больных МКЛ, а также изучена взаимосвязь выявленных генетических изменений с клиническими характеристиками этих пациентов.

Впервые в Российском исследовании определена целесообразность выделения «double-hit» МКЛ как высоко агрессивной подгруппы.

Проведенное исследование убедительно показало необходимость включения СЦИ, а также FISH статуса генов *MYC* и *TP53* в алгоритм лабораторной диагностики МКЛ, направленной на оценку прогноза течения этого заболевания.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям по специальности 3.1.28 – Гематология и переливание крови. Цель, задачи диссертационного исследования сформированы на основании изучения большого объема литературы. Достоверность и обоснованность выводов, представленных в диссертационной работе Клеиной Е.В., не вызывает сомнений, так как они базируются на достаточном объеме материала и длительном наблюдении. В общей сложности диссертантом был выполнен анализ данных 117 пациентов с МКЛ с медианой наблюдения 30 месяцев. Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования были проведены с использованием современной лабораторной базы. Экспериментальная часть построена логично и не вызывает вопросов. Выводы и практические рекомендации рецензируемого исследования являются полностью обоснованными и соответствуют содержанию работы. Замечаний в отношении методических подходов, обоснованности выводов, научной новизне и практической значимости работы нет.

Значимость для науки и практики результатов диссертации и конкретные пути их использования

Проведенное Клеиной Е.В. исследование имеет большую научную и практическую ценность. В работе представлены новые данные по частоте встречаемости высокоспецифичной для пациентов с МКЛ транслокации *t(11;14)(q13;q32)*, показана прогностически неблагоприятная значимость aberrаций генов *MYC* и *TP53*, выявлено достоверное неблагоприятное влияние комплексных изменений кариотипа на продолжительность общей и

безрецидивной выживаемости. Диссертантом убедительно показано, что предложенный алгоритм генетической диагностики МКЛ позволяет дополнить применяемые в настоящее время методики оценки риска при МКЛ. В свою очередь, это улучшит диагностику, прогнозирование клинического течения МКЛ и выбор оптимального метода лечения для каждого пациента с учетом цитогенетических характеристик опухолевого клона.

Результаты исследования внедрены и применяются в практической и научно-исследовательской деятельности Научно-исследовательского Центра клеточной и молекулярной патологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства». Результаты исследований используются в работе гематологических отделений лечебно-профилактических учреждений Санкт-Петербурга – Городской больницы №15, ГБУЗ Ленинградской областной клинической больницы, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом, замечания по оформлению

Диссертационная работа Клеиной Елизаветы Вячеславовны изложена на 174 страницах машинописного текста, оформлена в соответствии с существующими требованиями. Работа построена в традиционном стиле, и включает в себя: введение, обзор литературы, описание методов исследования, результатов исследования, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Диссертация иллюстрирована 63 рисунками и 24 таблицами. Библиография содержит 142 литературных источника, из которых 24 – отечественных авторов и 118 - зарубежных;

Во введении диссертант представляет актуальность проблемы, четко формулирует цель и задачи диссертационной работы, характеризует научную новизну и практическую значимость проведенного исследования.

Высокой оценки заслуживает прекрасно написанный, глубокий по содержанию обзор литературы с выделением отдельных вариантов МКЛ, который требует отдельной публикации. В нём представлен подробный анализ генов, участвующих в патогенезе и определяющих особенности течения МКЛ. Обзор литературы построен логично, написан хорошим литературным языком и охватывает весь спектр профильной современной научной периодики.

Несомненным достоинством диссертационной работы считается раздел, посвященный описанию материалов и методов. Четкость и полнота описания методов стандартного кариотипирования и флуоресцентной *in situ* гибридизации, свидетельствуют о высоком профессионализме соискателя, его понимании современных методик. Использованные методы полностью соответствуют целям и задачам данной работы.

На первом этапе собственных исследований автор проанализировал клинико-лабораторные данные пациентов с МКЛ и показал их взаимосвязь с результатами стандартного цитогенетического исследования и FISH с ДНК-зондами к генам *MYC*/8q24, *TP53*/17p13. Далее диссертант провел анализ клинико-лабораторных характеристик пациентов с «double-hit» МКЛ. Отдельное внимание автор уделил поиску прогностически значимых клинических и лабораторных параметров, влияющих на общую и безрецидивную выживаемость больных МКЛ.

В четвертой главе диссертант представляет результаты цитогенетического исследования, демонстрирует частоту встречаемости и прогностическое значение генетических нарушений у пациентов с МКЛ.

В заключительной главе Клеина Е.В. сопоставила полученные результаты с данными литературы, а также представила алгоритм генетической стратификации пациентов с МКЛ, в котором показала необходимость проведения FISH с оценкой статуса генов *MYC* и *TP53* у таких пациентов. Выводы диссертационной работы полностью отвечают на поставленные задачи, непосредственно вытекают из материалов диссертации и подтверждены фактическим материалом. Положения, выносимые на защиту, соответствуют цели и задачам. Практические рекомендации логично вытекают из результатов выполненной научной работы.

Замечанием по оформлению диссертации является использование слишком мелкого шрифта в легендах графиков выживаемости пациентов, графики также представлены без указания количества больных. Кроме того, в таблице № 6 обнаружено несоответствие показателей частоты встречаемости в группе пациентов с повреждением гена *TP53*. Несмотря на высказанные замечания ценность выполненной работы не вызывает никакого сомнения.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

По теме диссертационного исследования опубликованы 9 печатных работ, включая 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

Соответствие содержания автореферата основным идеям и выводам диссертации

Основные положения диссертационного исследования изложены в автореферате на 21 странице машинописного текста, дополненного иллюстрациями в виде таблиц и рисунков. В автореферате в сжатой форме отражены основные результаты исследования, обоснованы ключевые положения и выводы работы. Содержание автореферата соответствует сути диссертационного исследования.

Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертации нет. В порядке дискуссии хотелось бы уточнить:

1. Все ли аберрации хромосомы 17 следует относить к неблагоприятным или только повреждения её короткого плеча с картированным на нём геном *TP53*?
2. В Вашей работе были использованы данные СЦИ и FISH клеток крови и костного мозга, которые поражаются в более продвинутых стадиях МКЛ. Не отразилось ли это на выборке пациентов с включением в исследование в основном больных с агрессивными формами МКЛ?
3. В Вашем исследовании было отмечено, что показатель пролиферативной активности Ki-67 в группах *MYC+* и *MYC-* не отличался. С какими факторами Вы связываете наблюдаемые клинические различия у пациентов с различным FISH-статусом гена *MYC*?

Заданные вопросы и высказанные оппонентом замечания носят скорее дискуссионный характер, не затрагивают сути основных выводов и положений диссертации и не влияют в целом на высокую положительную оценку выполненного исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Клейной Елизаветы Вячеславовны на тему «Генетическая стратификация и особенности клинического течения мантийноклеточной лимфомы», выполненная под руководством доктора биологических наук Мартынкевич И.С. и кандидата медицинских наук Волошина С.В., представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 - гематология и переливание крови, является самостоятельным законченным научно-квалифицированным исследованием. По актуальности, методическому уровню, объему

исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости, полностью соответствует требованиям положения о Присуждении ученых степеней, утвержденного Правительством РФ № 842 от 24 сентября 2013 (в редакции Постановлений Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 г., № 1168 от 01 октября 2018 г), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 - гематология и переливание крови.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук наук (шифр 14.01.21 –
гематология и переливание крови),
профессор кафедры гематологии, трансфузиологии,
трансплантологии с курсом детской онкологии
факультета послевузовского образования
имени профессора Б.В. Афанасьева
ФГБУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова» МЗ
заведующий лабораторией цитогенетики
и диагностики генетических заболеваний
клиники НИИ детской онкологии, гематологии
и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой



Подпись руки заверяю: Геннадий Григорьевич Рыбаков
Спец. по кадрам В. Рыбаков
* 31 * 10 20.9.93



Гиндина Т.Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации

197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8

Тел. (812)338-62-92

e-mail: cytogenetics.bmt.lab@gmail.com, сайт: www.1spbgu.ru

31.10.2023