

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИМЕНИ В. А. АЛМАЗОВА»



197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
Тел/факс +7 (812) 702-37-30
e-mail: fmc@almazovcentre.ru
ОГРН 1037804031011 ИНН 7802630429 КПП 781401001

27.10.2023 № 02-05 - 12863/23

на № _____ от _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель генерального
директора по научной работе
Федерального государственного
бюджетного учреждения

«Национальный медицинский
исследовательский центр имени В.А. Алмазова»

Министерства здравоохранения
Российской Федерации

доктор медицинских наук,
профессор, академик РАН

А.О. Конради

«27 » октября 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической значимости диссертационной работы Клеиной Елизаветы Вячеславовны на тему «Генетическая стратификация и особенности клинического течения мантийноклеточной лимфомы», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 – гематология и переливание крови

Обоснование актуальности исследования

Мантийноклеточная лимфома (МКЛ) представляет собой редкий тип зрелоклеточного В-лимфопролиферативного заболевания, составляя 5% всех неходжкинских лимфом, цитогенетическим маркером которого является транслокация $t(11;14)$ (q13, q32), сопровождающаяся гиперэкспрессией циклина D1 (CCND1). Ежегодная заболеваемость MCL составляет около 1 случая на 200 000 населения с преобладанием мужчин (3:1). Заболевание характеризуется наличием большого количества

повторяющихся генетических изменений, которые включают аберрации в нескольких клеточных путях. МКЛ — гетерогенное заболевание с широким спектром клинических проявлений, большинство из которых проявляется агрессивным заболеванием на поздних стадиях.

Первичным генетическим событием в развитии МКЛ является транслокация $t(11;14)(q13;q32)$, приводящая к гиперэкспрессии циклина D1 и бесконтрольной клеточной пролиферации. Отмечено, что из всех В-клеточных лимфом при МКЛ выявляется самая высокая частота нестабильности генома и наряду с транслокацией $t(11;14)(q13;q32)$ у больных обнаруживается большое количество дополнительных цито- и молекулярно-генетических аберраций, нарушающих ключевые механизмы регуляции клеточного цикла, и, таким образом, определяющих прогрессирующе клиническое течение опухоли.

Среди широкого спектра вторичных генетических аберраций на сегодняшний день особое внимание уделяется изучению роли в лимфомогенезе МКЛ и прогностической значимости нарушений гена *MYC/8q24*, выявляемых как в дебюте, так и при рецидиве/прогрессии заболевания и исследованию высоко агрессивной подгруппы МКЛ («double-hit» МКЛ) с сочетанием транслокации $t(11;14)(q13;q32)$ и изменениями гена *MYC/8q24*. Пациенты с «double-hit» вариантом МКЛ характеризуются прогрессирующим клиническим течением заболевания и рефрактерностью к проводимой терапии, для улучшения их выявления важным является разработка алгоритма генетической диагностики, включающий FISH-исследование для выявления нарушений гена *MYC/8q24*, что наиболее важно для больных с бластоидным и плеоморфным вариантами МКЛ, а также при подозрении на прогрессирование или рецидив заболевания.

В отечественной и зарубежной литературе крайне мало информации о частоте встречаемости и комплексном влиянии цитогенетических и молекулярно-цитогенетических характеристик опухолевого клона на клиническое течение и прогноз МКЛ, практически не представлены данные

многоцентровых исследований, посвященных «double-hit» МКЛ, что говорит о необходимости изучения хромосомных, молекулярно-цитогенетических и клинических характеристик данной группы пациентов и об актуальности темы исследования.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

Целью данного диссертационного исследования была разработка алгоритма диагностики и стратификации МКЛ на основе на основе прогностически значимых молекулярно-генетических маркеров и их взаимосвязи с клиническими особенностями заболевания и ответом на терапию.

Автором получены новые данные о частоте встречаемости транслокации $t(11;14)(q13;q32)$, а также комплексных изменений кариотипа, аберраций генов *MYC/8q24*, *TP53/17p13*, моносомии хромосомы 17 у больных МКЛ. Результаты исследования подтвердили неблагоприятное влияние на выживаемость пациентов выявляемых при кариотипировании патологий, в особенности множественных структурных и числовых комплексных нарушений, а также делеции гена *TP53/17p13* и изменений гена *MYC/8q24*. Кроме того, соискателем продемонстрировано отрицательное влияние на безрецидивную выживаемость делеции *TP53/17p13* и комплексного кариотипа.

В ходе диссертационного исследования изучена взаимосвязь выявленных хромосомных и молекулярно-цитогенетических нарушений с такими клиническими характеристиками МКЛ как показатели периферической крови и костного мозга, наличие гепато- и спленомегалии, выраженность лимфаденопатии, симптомы опухолевой интоксикации.

Автором определена целесообразность выделения «double-hit» МКЛ как особо неблагоприятной высоко агрессивной подгруппы и исследованы ее цитогенетический и молекулярно-генетический профиль.

На основании результатов исследований соискатель продемонстрировал важность включения хромосомных и генетических аберраций в алгоритм лабораторной диагностики МКЛ для оценки прогноза, выявление которых возможно при комплексном подходе, включающем проведение стандартного цитогенетического и FISH-исследования. Параллельное культивирование костного мозга и периферической крови у 14 пациентов с МКЛ продемонстрировало достоверно более частое обнаружение опухолевого клона при анализе митоген-стимулированных В-лимфоцитов, что определило приоритетность выбора периферической крови в качестве материала для исследования.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Полученные результаты исследования позволяют создать и оптимизировать алгоритм генетической диагностики пациентов с МКЛ на основании особенностей генома клеток патологического клона и дополнить представления о характеристиках, частоте выявляемости и прогностической значимости хромосомных аберраций при данной патологии.

На основании полученных результатов кариотипирования и молекулярно-цитогенетического исследований оптимизирован алгоритм диагностики пациентов с МКЛ. Показано, что сочетанное изучение хромосомных и генетических характеристик опухолевых клеток у пациентов с МКЛ помогает расширить представления о биологии, становлении и прогрессии МКЛ.

Полученные данные позволяют улучшить качество диагностики МКЛ, помогут стратифицировать пациентов на группы риска в зависимости от вида выявленных аберраций и, таким образом, определить для каждого пациента максимально эффективную терапевтическую тактику.

Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы диагностики, а также мониторинга больных МКЛ 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.

Достоверность и обоснованность научных положений и выводов

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов определяется достаточным количеством материала (117 пациентов с МКЛ) и объемом полученных данных. Диссертационное исследование выполнено с использованием современных лабораторных исследований и статистических методов анализа.

Поставленные диссидентом задачи полностью раскрыты, выводы и выносимые на защиту положения являются обоснованными и соответствуют содержанию работы.

По теме диссертации опубликованы 9 печатных работ, 3 из которых в изданиях, рекомендуемых экспертным советом ВАК. Основные положения доложены и обсуждены на научно-практических конференциях.

Содержание автореферата и печатных работ соответствует теме диссертации.

Оценка содержания диссертации, ее оформления и завершенности

Диссертационная работа изложена на 174 страницах машинописного текста и состоит из введения, глав обзора литературы, описания методов исследования, результатов исследования, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, перспектив разработки темы и списка

литературы, включающего 142 источников, в том числе 24 отечественных. Работа содержит 63 рисунка и 24 таблицы.

Во введении обосновывается актуальность проведенного исследования, степень разработанности темы докторской диссертации, исследования, представленные задачи соответствуют цели, описаны положения, выносимые на защиту, методология, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, соответствие исследования паспорту научных специальностей.

В первой главе представлен обзор имеющихся литературных данных о мантийноклеточной лимфоме, патогенезу заболевания, особенностям агрессивной и индолентной МКЛ, роли цитогенетических и молекулярно-генетических маркеров в диагностике и определении прогностических особенностей течения МКЛ, который обосновывает актуальность и необходимость дальнейшего изучения данной темы. Подробно дана информация о молекулярной биологии и общей характеристикеprotoонкогена MYC, в том числе при изучаемой патологии, иммунофенотипические характеристики и пролиферативный потенциал опухоли.

Во второй главе содержится подробная характеристика 117 исследуемых пациентов с МКЛ, представлено подробное описание основных методов исследования (стандартного цитогенетического, флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH)) и статистической обработки полученных результатов.

Третья глава посвящена результатам собственных исследований. Соискатель приводит описание клинических и лабораторных данных пациентов с МКЛ в группах в зависимости от наличия изменений гена *MYC/8q24*, делеции *TP53/17p13* и результатов стандартного кариотипирования. Также в главе представлена характеристика клинико-лабораторных данных 22 пациентов с «double-hit» вариантом МКЛ. Автором выявлены факторы, в наибольшей степени влияющие на общую и безрецидивную выживаемость пациентов с МКЛ, а именно: изменения гена

MYC, аберрации гена TP53, комплексные аномалии кариотипа и высокий пролиферативный индекс опухоли. По результатам многофакторного регрессионного анализа генетических и клинико-лабораторных факторов было показано наибольшее влияние аберраций гена *MYC*.

В четвертой главе представлены результаты исследования цитогенетических и молекулярно-генетических особенностей больных МКЛ. Отдельно рассмотрены частота встречаемости и влияние на исходы различных хромосомных аберраций, молекулярно-цитогенетических аберраций ($t(11;14)(q13;q32)$), аберраций гена TP53 и MYC. Сопоставление результатов СЦИ и FISH-исследования с использованием ДНК-пробы к гену *MYC* показало, что изменения гена *MYC* во всех случаях выявлялись только методом FISH.

На примере отдельных клинических случаев продемонстрирована важность совместно использования стандартного цитогенетического исследования и FISH исследования для проведения стратификации больных и выбора терапии. Отдельно проанализированы результаты сочетанного стандартного цитогенетического и FISH-исследования клеток костного мозга и периферической крови больных МКЛ.

Автором показано, что патологический кариотип чаще выявлялся при культивировании митоген-стимулированных лимфоцитов. Доказано наибольшее отрицательное влияние на ОВ пациентов изменений в виде сочетания транслокацией $t(11;14)(q13;q32)$ с дополнительными хромосомными аберрациями (ДХА) и изменениями 17 хромосомы.

В главе «Заключение» обобщены и подробно проанализированы полученные результаты исследования, проведено их сравнение с данными отечественной и зарубежной литературы. На основании представленных данных создан алгоритм генетической диагностики больных МКЛ, что может дополнить применяемые на настоящее время методики оценки риска при МКЛ, улучшить диагностику, прогнозирование характера клинического течения МКЛ и выбор оптимального метода лечения для каждого пациента.

Выводы и практические рекомендации основаны на достоверных результатах, соответствуют содержанию работы, сформированы логично в соответствии с представленными данными.

Соискателем также представлены дальнейшие перспективы разработки темы диссертации.

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации, оформлен в соответствии с требованиями п.25 Положения о присуждении ученых степеней.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационного исследования могут быть использованы в практической деятельности специализированных лечебных учреждений онкогематологического профиля при планировании лечения больных МКЛ, а также в учебном процессе на кафедрах онкологии и гематологии медицинских вузов.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по диссертации и автореферату, которые бы повлияли на позитивную оценку данной работы, нет.

В качестве дискуссии диссидентанту предлагается ответить на ряд вопросов:

1. Хотелось бы уточнить: какой индукционный химиотерапевтический режим был выбран у пациентов с МКЛ и как с Вашей точки зрения он повлиял на выживаемость пациентов с наиболее неблагоприятными цитогенетическими и молекулярно-генетическим событиями, анализируемыми в исследовании.
2. Какими молекулярно-генетическими исследованиями с Вашей точки зрения необходимо дополнить обследование пациентов с МКЛ для оптимизации терапии.

Заключение

Диссертационное исследование Клеиной Елизаветы Вячеславовны на тему «Генетическая стратификация и особенности клинического течения мантийноклеточной лимфомы», выполненная под руководством доктора биологических наук Мартынкевич Ирины Степановны и кандидата медицинских наук Волошина Сергея Владимировича, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 - гематология и переливание крови, является законченной научно-квалифицированной работой по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ № 842 от 24 сентября 2013 (с изменениями в редакции Постановлений Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 г., №748 от 02 августа 2016 г., №650 от 29 мая 2017 г., №1024 от 28 августа 2017 г., № 168 от 01 октября 2018 г.), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 - Гематология и переливание крови.

Отзыв о научно-практической ценности диссертации Клеиной Елизаветы Вячеславовны обсужден и одобрен на заседании кафедры факультетской терапии с клиникой ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А.Алмазова» (протокол заседания № 7 от 25 октября 2023 г.)

Директор Института онкологии и гематологии,
профессор кафедры факультетской терапии с клиникой
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр
им. В.А. Алмазова» Минздрава России
доктор медицинских наук
(3.1.28. Гематология и переливание крови)

доцент



Салогуб Галина Николаевна

Подпись д.м.н., доцента Салогуб Г.Н., заверяю:

Ученый секретарь

ФГБУ «НМИЦ им. В.А.Алмазова»

Минздрава России, д.м.н., профессор



Недопшигин Александр Олегович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

197371, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2

Тел. 8 (812) 702-37-30

Эл. адрес: fmrs@almazovcentre.ru