

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, заведующей патологоанатомическим отделением Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации Ковригиной Аллы Михайловны на диссертационную работу Сарповой Марии Вадимовны «Значение aberrаций генов *CDKN2A*, *CDKN2B* хромосомного региона 9p21 и экспрессии их белковых продуктов p16INK4a, p14ARF в прогнозировании диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.28 Гематология и переливание крови

Актуальность темы диссертации

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) – одна из наиболее распространенных и агрессивных нозологий неходжкинских лимфом, составляет в среднем 25% от всех неходжкинских лимфом. Современные программы с применением иммунотерапии значительно улучшают прогноз и выживаемость пациентов, однако в 20–30% случаев регистрируются ранние рецидивы или рефрактерность к лечению. Лечение рефрактерных/рецидивирующих форм представляет собой одну из сложнейших задач клинической онкогематологии. Существующие прогностические системы не учитывают биологические характеристики, которые могут выступать перспективными маркерами для стратификации больных на группы риска и выбора терапевтической тактики до начала терапии.

Диссертация Сарповой М.В. посвящена исследованию прогностического значения aberrаций одних из наиболее часто повреждаемых при многих злокачественных новообразованиях генов-супрессоров опухолевого роста, таких как *CDKN2A*, *CDKN2B*. Белковые продукты данных генов регулируют механизмы апоптоза и контроля клеточного цикла, по данным литературы участвуют в формировании резистентности опухоли к проводимой терапии. Роль aberrаций данных генов при ДВКЛ до конца не изучена, а значение экспрессии белковых продуктов при данной нозологии не определено. Таким образом, актуальность темы диссертационной работы не вызывает сомнений.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и практических рекомендаций

Диссертационная работа Сарповой М.В. является оригинальным научным исследованием, которое выполнено в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и

переливания крови Федерального медико-биологического агентства». Содержание и научные положения рукописи соответствуют паспорту специальности 3.1.28 Гематология и переливание крови (биологические науки).

Достоверность полученных результатов и выводов не вызывает сомнения. Работа выполнена на репрезентативном материале достаточной выборки (103 пациента). Продолжительный период наблюдения и тщательный анализ данных, проведенный с применением современных методов статистического анализа, обеспечивает надежность результатов исследования. Полученные данные в целом сопоставимы с результатами международных исследований.

Все этапы диссертационной работы выполнялись автором или при его непосредственном участии. Обработка данных осуществлялась при помощи современных статистических программ. Сертифицированное лабораторное оборудование, используемое в исследовании, позволило получить достоверные данные, исключая систематические ошибки. Научные положения, выносимые на защиту, соответствуют поставленной цели и задачам.

Основные положения работы докладывались автором на ряде значимых научных конференций, среди которых XI Международная научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика 2023», VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии» и др. По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований. По результатам работы получены 2 патента Российской Федерации.

Таким образом, выводы и практические рекомендации являются обоснованными и логичными, поскольку исследование выполнено с использованием строгих методологических подходов, репрезентативной выборки и современного оборудования. Эти факторы обеспечивают высокую степень достоверности результатов, а публикации и выступления на научных форумах подтверждают их признание и значимость в научном сообществе.

Научная новизна диссертационного исследования

В настоящем исследовании впервые обнаружено, что сочетанные аберрации генов *CDKN2B* и *TP53* ассоциированы со снижением общей выживаемости больных ДВКЛ. Впервые показано, что высокое число p16INK4a-позитивных кариоцитов связано с

наличием аберраций *TP53*, полисомиями по хромосоме 9, отсутствием делеций *CDKN2A* и реаранжировок *BCL6* при ДВКЛ. Полученные данные способствуют расширению представления о генетических, иммуногистохимических и биологических особенностях развития ДВКЛ.

Значимым результатом исследования является установление связи между количеством p14ARF-позитивных опухолевых клеток ($\geq 72\%$) и снижением общей выживаемости пациентов с ДВКЛ. Особое значение отведено расчету индексов долей p16INK4a/p14ARF- и p14ARF/p53-позитивных опухолевых клеток (ИД^{p16/p14} и ИД^{p14/p53}). Показано, что данные маркеры могут выступать в качестве дополнительных молекулярных предиктивных критериев неблагоприятного течения ДВКЛ. Полученные данные позволят проводить стратификацию пациентов на группы риска на этапе первичной диагностики с помощью иммуногистохимического метода исследования.

Важным аспектом исследовательской работы является обнаруженная связь между ИД^{p16/p14} и ИД^{p14/p53} и наличием патогенных вариантов *TP53*. Таким образом, высокие показатели ИД^{p16/p14} и ИД^{p14/p53} показаны перспективными маркерами для скрининга случаев, потенциально несущих мутантный аллель гена *TP53*.

Значимость для науки и практики результатов работы

Полученные в ходе исследования результаты демонстрируют возможность использования генетических и иммуногистохимических маркеров в качестве прогностических маркеров при ДВКЛ. Делеция хромосомного региона 9p21, количество p14ARF-позитивных кариоцитов $\geq 72\%$, высокие ИД^{p16/p14}- и ИД^{p14/p53}-положительных клеток ($\geq 72\%$ и $\geq 49\%$ соответственно) установлены самостоятельными предикторами неблагоприятного исхода заболевания и могут быть использованы в качестве дополнительных к МПИ маркеров прогноза течения заболевания.

В клинической и патологоанатомической практике автором данной диссертационной работы предложено расширить стандартную диагностическую иммуногистохимическую панель с использованием антител к p16INK4a, p14ARF и p53, рекомендуется проведение морфометрического подсчета их относительного количества для установления факторов риска неблагоприятного исхода течения заболевания.

Высокие ИД^{p16/p14} и ИД^{p14/p53} могут быть использованы для скрининга патогенных вариантов гена *TP53* в тех случаях, когда невозможно оценить его мутационный статус дорогостоящими и трудоемкими методами секвенирования.

Оценка содержания и результатов работы

Диссертация изложена на 128 страницах машинописного текста, ее структура соответствует требованиям, предъявляемым к работам данного уровня. Включены все необходимые разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы разработки темы, список литературы и приложения. Название работы соответствует ее цели из которой вытекают конкретные, четкие задачи.

Анализ структуры работы показывает логичность и последовательность изложения материала. В обзоре литературы приведена характеристика факторов прогноза ДВКЛ, известных на сегодняшний день, описаны клинические, морфологические, иммуногистохимические, цито- и молекулярно-генетические предикторы течения заболевания. Методологический раздел (Глава 2) содержит подробное описание исследуемой когорты больных ДВКЛ, примененных методов, а также алгоритмов статистической обработки данных. Глава 3 отражает результаты собственных исследований. Результаты исследования содержат анализ частоты встречаемости делеций хромосомного региона 9p21 и локализованных в нем генов *CDKN2A*, *CDKN2B*. Доказано, что делеция хромосомного региона 9p21 ассоциирована со снижением беспрогрессивной выживаемости больных ДВКЛ, а сочетанные аберрации генов-супрессоров *CDKN2B* и *TP53* – со снижением общей выживаемости. Автором проанализирован характер экспрессии белков p16INK4a, p14ARF, p53 и продемонстрировано, что повышение количества p16INK4a-положительных опухолевых клеток связано с такими биологическими особенностями ДВКЛ, как наличие аберраций *TP53*, полисомии по хромосоме 9, отсутствие реаранжировок *BCL6* и делеций *CDKN2A*, а содержание p14-позитивных кариоцитов $\geq 72\%$ ассоциировано со снижением общей выживаемости больных ДВКЛ. В многофакторном анализе выживаемости показано, что высокие ИД^{p16/p14} и ИД^{p14/p53} ($\geq 36\%$ и $\geq 49\%$ соответственно) могут быть использованы в качестве независимых дополнительных прогностических маркеров неблагоприятного течения ДВКЛ.

В Заключение автор резюмирует основные положения исследовательской работы, подчеркивает ее научную и практическую значимость, излагает перспективы дальнейшего исследования указанной проблемы. Следует отметить продуманный дизайн исследования и корректность интерпретации полученных данных.

Вопросы и замечания

1. В своей диссертационной работе Сарпова Мария Вадимовна исследует экспрессию белка p53 и сопоставляет ее с del17p/mutTP53, при этом 20% пациентов имеют экспрессию белка p53 в диапазоне 0-10%. В этой связи вопрос: почему автор определял полуколичественно экспрессию белка в таком широком диапазоне 0-91% при отсутствии оценки интенсивности экспрессии, например, гиперэкспрессии? являются ли случаи с экспрессией белка <10% отражением TP53 «дикого типа»? Иллюстрации экспрессии белка p53 при TP53 «дикого типа», или при миссенс- и нонсенс-мутациях в гене TP53, или при сопоставлении экспрессии белка в группе больных с mutTP53 (медиана 70% позитивных клеток, таблица 10) и с изолированной del17p (медиана 67% позитивных клеток), представляли бы большой интерес, с учетом полуколичественной оценки и интенсивности экспрессии белка, но в работе отсутствуют.
2. Автором диссертационного исследования обнаружена ассоциация делеции CDKN2A/B с амплификацией локуса 18q21. Известно, что изменение числа копий в данном локусе характерно и для трансформированных фолликулярных лимфом. В этой связи вопрос: все ли исследованные случаи диффузной В-крупноклеточной лимфомы были возникшими de novo, или включали также трансформированные из фолликулярной лимфомы?
3. Известно, что генетические aberrации CDKN2A/B ассоциированы с non-GCB-подтипом диффузной В-крупноклеточной лимфомы. Важным был бы анализ полученных автором результатов с учетом иммуногистохимического подтипа (GCB/non-GCB) диффузной В-крупноклеточной лимфомы.

Указанные вопросы и замечания не носят принципиальный характер и не умаляют достоинств проведенного большого научного исследования, они указывают на необходимость дальнейшего развития данного научного направления.

Заключение

Диссертация Сарповой Марии Вадимовны на тему «Значение aberrаций генов CDKN2A, CDKN2B хромосомного региона 9p21 и экспрессии их белковых продуктов p16INK4a, p14ARF в прогнозировании диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы», выполненная под руководством Дьяконова Дмитрия Андреевича и представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является

самостоятельным и завершенным научным исследованием, в которой решена актуальная задача современной онкогематологии, предложены новые биомаркеры, которые могут служить предиктивными маркерами, и направлены на улучшение стратификации пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой и повышение эффективности проводимой терапии. В целом, работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, отличается научной новизной, обоснованностью выводов и практической значимостью полученных результатов.

С учетом вышеизложенного, рецензируемая диссертация полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (с учетом всех актуальных изменений), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Сарпова Мария Вадимовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.28 - Гематология и переливание крови.

Официальный оппонент:
заведующая патологоанатомическим
отделением ФГБУ «НМИЦ гематологии»
Минздрава России
доктор биологических наук по специальности
14.00.14 – Онкология

А.М. Ковригина

Подпись д.б.н. А.М. Ковригиной заверяю
Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ гематологии»
Минздрава России
кандидат медицинских наук



У.Л. Джулакян

«02» сентября 2025 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 125167, Российская Федерация, г. Москва, Новый Зыковский пр-д, д. 4

Тел.: +7(495) 612-45-51

Email: director@blood.ru