

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор  
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России, д.м.н. профессор



Н.С. Грачев

«26» августа 2025 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертации 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», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови

### Актуальность избранной темы

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) является наиболее распространенным типом неходжкинских лимфом. Заболевание характеризуется различными темпами прогрессирования, неодинаковой выживаемостью больных и чувствительностью к терапии.

В настоящее время для оценки индивидуального риска раннего прогрессирования болезни используется международный прогностический индекс (МПИ) и его модификации. Однако они не всегда позволяют точно предсказать характер дальнейшего течения патологического процесса у каждого конкретного больного. Поэтому поиск информативных биологических маркеров, определяющих прогноз заболевания, несомненно, следует считать актуальной задачей медицинской науки.

Известно, что ДВКЛ характеризуется многочисленными генетическими изменениями. В течение последних 10 лет активно проводятся исследования прогностической роли aberrаций генов (и их белковых продуктов) *MYC*, *TP53*, *MYD88*, *BCL2*, *BCL6*, *CDKN2A*, *CDKN2B* и других, встречающихся изолированно или в сочетании друг с другом, или с иными аномалиями. Aberrации гена *TP53*, по данным литературы, показаны независимыми предикторами неблагоприятного прогноза при данной нозологии, тогда как значение иммуногистохимической экспрессии его белка (p53) неоднозначно. Результаты исследований прогностической значимости делеции *CDKN2A* и/или *CDKN2B*, локализованных в регионе 9p21 при ДВКЛ противоречивы. Белковые продукты гена *CDKN2A* – p16INK4a (p16) и p14ARF (p14) являются значимыми компонентами путей апоптоза (p14-HDM2-p53) и клеточного цикла (p16-CDK4/6-Rb). В источниках литературы изучение указанных сигнальных молекул проводили преимущественно при солидных опухолях, сведения о значении их экспрессии при ДВКЛ отсутствуют, что подчеркивает актуальность исследования.

### **Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые обнаружено, что сочетанные aberrации генов *CDKN2B* и *TP53* ассоциированы со снижением общей выживаемости больных ДВКЛ. Автором показано, что высокое число p16-позитивных кариоцитов связано с наличием aberrаций *TP53*, полисомиями по хромосоме 9, отсутствием делеций *CDKN2A* и реаранжировок *BCL6* при ДВКЛ. Впервые установлено, что количество p14-позитивных опухолевых клеток  $\geq 72\%$  связано со снижением общей выживаемости пациентов с ДВКЛ. Впервые рассчитаны и предложены к применению индексы долей p16/p14- и p14/p53-позитивных опухолевых клеток (ИД<sup>p16/p14</sup> и ИД<sup>p14/p53</sup>) в качестве дополнительных молекулярных критериев оценки неблагоприятного течения ДВКЛ. Впервые показана связь ИД<sup>p16/p14</sup> и ИД<sup>p14/p53</sup> с наличием патогенных вариантов *TP53*.

Степень достоверности результатов проведенных исследований, обоснованность выводов, практических рекомендаций не вызывает сомнения и подтверждается их тщательным анализом. Дизайн исследования понятен, логичен. Научная работа выполнена на достаточном количестве материала при использовании высокотехнологичных методик и лабораторного оборудования, современных программ для обработки статистических данных. Изучены биоптаты лимфоузлов и других, вовлеченных в патологический процесс органов и тканей, полученных от 103 пациентов с впервые установленной ДВКЛ. Гистологическая и иммуногистохимическая верификация диагноза выполнена на биопсийном материале пациентов в лаборатории патоморфологии ФГБУН КНИИГи ПК ФМБА России (заведующий лабораторией – канд.мед.наук. Д.А. Дьяконов). Всем пациентам назначали лечение в соответствии с первой линией иммунохимиотерапии по схеме R-СНОР. Поставленная диссертантом цель и задачи в полной мере раскрыты, выводы и выносимые на защиту положения являются обоснованными.

### **Значимость для науки полученных автором результатов диссертации**

Автором проведен глубокий анализ современной литературы, отражающей актуальность проведенного исследования. Показаны данные о степени изученности aberrаций *CDKN2A* и/или *CDKN2B*, а также экспрессии белковых продуктов p16, p14 при ДВКЛ на момент проведения исследования. Результаты диссертационного исследования способствуют расширению представлений о биологических особенностях развития ДВКЛ.

В результате исследования изучена частота встречаемости делеций хромосомного региона 9p21 при ДВКЛ методами FISH и ПЦР. В целом делеции выявлены у 32% больных. Проанализирована связь между наличием поломок *CDKN2A*, *CDKN2B* и биологическими характеристиками ДВКЛ, а также клинко-лабораторными параметрами больных. Установлено, что делеции исследуемых генов чаще встречались у пациентов с увеличением количества копий локуса 18q21. Статистически значимой связи между наличием делеций в локусе 9p21 и клинко-лабораторными характеристиками пациентов не установлено. В многофакторном

анализе Кокса показано, что делеция хромосомного региона 9p21 является независимым критерием прогноза течения ДВКЛ в отношении снижения пятилетней беспрогрессивной выживаемости (БПВ) наряду с МПИ > 2. Автором установлено, что наличие сочетанных aberrаций генов супрессоров *CDKN2B* и *TP53* ассоциировано со снижением пятилетней общей выживаемости (ОВ) пациентов.

Исследован уровень p16-, p14- и p53-экспрессирующих клеток. Выявлено, что относительное количество p16-позитивных клеток значительно ниже при делециях гена *CDKN2A* или aberrациях *BCL6*. Увеличение числа p16-положительных опухолевых клеток характерно при полисомиях по хромосоме 9, ассоциировано с наличием делеций локуса 17p13 и патогенных вариантов *TP53*. Количество p53-позитивных клеток напрямую связано с наличием aberrаций гена *TP53*.

Автором обнаружено, что высокий уровень p14-экспрессирующих клеток связан с промежуточным высоким и высоким риском по шкале МПИ. Относительные доли p14- и p53-позитивных кариоцитов ассоциированы с прогрессированием заболевания и показаны независимыми предикторами снижения ОВ и БПВ выживаемости больных ДВКЛ. Определены оптимальные прогностически-значимые пороговые уровни p14- и p53-положительных клеток, соответствующие 72% и 36% соответственно.

Интересным подходом к оценке роли белков при ДВКЛ стало вычисление индексов долей p16INK4a/p14ARF- (ИД<sup>p16/p14</sup>), 14ARF/p53- (ИД<sup>p14/p53</sup>) и p16INK4a/p53-положительных опухолевых клеток (ИД<sup>p16/p53</sup>) с последующим анализом их пороговых значений. Показана связь данных индексов с наличием патогенных вариантов гена *TP53*. Наиболее подходящим для скрининга случаев, потенциально несущих патогенный вариант *TP53*, установлен ИД<sup>p14/p53</sup> на уровне 54%. Автором предложен к применению ИД<sup>p16/p14</sup> в качестве прогностического маркера, поскольку его надпороговые показатели ( $\geq 36\%$ ) связаны со снижением пятилетней ОВ при ДВКЛ. Высокий ИД<sup>p14/p53</sup> ассоциирован с отсутствием полного ответа на терапию 1 линии и прогрессией заболевания в течение 24 мес. Оптимальное прогностически значимое пороговое значение для ИД<sup>p14/p53</sup> установлено на уровне 49%. Показатели ОВ и БПВ у больных с высоким индексом статистически значимо

ниже, чем у обследованных с надпороговым значением ИД<sup>p14/p53</sup> (44,2% и 40% против 84% и 72% соответственно). По результатам многофакторного анализа ИД<sup>p14/p53</sup> установлен в качестве дополнительного независимого прогностического критерия ОВ и БПВ. Таким образом, надпороговый ИД<sup>p14/p53</sup> ( $\geq 49\%$ ) показан предиктором неблагоприятного прогноза течения ДВКЛ.

На основании полученных результатов автором установлены дополнительные критерии прогноза течения ДВКЛ в рамках стандартного лечения. Наличие делеций 9p21, относительная доля p14-, p53-позитивных опухолевых клеток и высокие индексы ИД<sup>p16/p14</sup> и ИД<sup>p14/p53</sup> позволяют выделять прогностически неблагоприятные группы пациентов, нуждающихся в интенсификации терапии уже в дебюте заболевания.

Таким образом, работа Сарповой М.В. обоснованно является практически значимой для науки и практического здравоохранения.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Разработанные методы можно рекомендовать для внедрения в практику патоморфологических лабораторий, в стационары гематологического профиля, а также в образовательном процессе на медицинских и биологических факультетах ВУЗов.

Диссертантом сделаны обоснованные выводы и сформированы практические рекомендации. Выявление делеции 9p21 и/или гиперэкспрессии маркеров p14 и p53 позволяет прогнозировать неблагоприятное течение заболевания у больных ДВКЛ в случае использования стандартного протокола R-CHOP в качестве первой линии терапии. Автор рекомендует включать в диагностический алгоритм исследование наличия делеций в локусе 9p21 наряду с обязательными анализами перестроек *MYC* (8q24), *BCL2* (18q21), *BCL6* (3q27) методом FISH и иммуногистохимическую оценку уровней p14- и p53-положительных опухолевых клеток для своевременного обнаружения дополнительных прогностических маркеров неблагоприятного течения заболевания.

## **Оценка оформления диссертации, ее завершенности**

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к диссертационным работам, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав и подглав с результатами собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, списков сокращений и используемой литературы. Объем работы составляет 128 страниц машинописного текста. Рукопись проиллюстрирована 21 таблицей, 25 рисунками. Список литературы содержит 169 источников, в том числе 20 отечественных и 149 зарубежных.

Автореферат диссертации полностью соответствует самой диссертации, отражает все этапы исследования. Выводы и практические рекомендации достаточно конкретны, вытекают из полученных результатов и отвечают на поставленные в диссертации задачи. Основные научные положения работы вполне обоснованы и достоверны, так как опираются на достаточный объем исследования. В целом диссертация выполнена на высоком уровне, построена на логическом изложении материала и читается с интересом.

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 (№2785907 от 29.06.2022; №2814849 от 07.06.2023).

Замечаний, принципиальных возражений материалы диссертации и, выдвинутые автором положения, не вызывают.

## **Заключение**

Таким образом, диссертация Сарповой М.В. «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 кандидата медицинских

наук Дьяконова Дмитрия Андреевича, является законченной научно-квалификационной работой. Научные выводы соответствуют поставленным задачам исследования, логически вытекают из содержания работы.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09. 2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Сарпова М.В. заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном расширенном заседании отдела клинической патологии и кафедры гематологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, протокол № 4 от 26.08. 2025 г.

Заведующий отделом клинической патологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, кандидат медицинских наук, доцент



Дмитрий Михайлович Коновалов

Профессор кафедры гематологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, доктор медицинских наук, доцент



Наталья Валериевна Мякова

Подписи к.м.н., доцента Коновалова Д.М. и д.м.н., доцента Мяковой Н.В. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им.

Дмитрия Рогачева» Минздрава России

доктор медицинских наук, доцент



Дмитрий Сергеевич Блинов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: ул. Саморы Машела, д. 1, г. Москва, ГСП-7, 117997

Телефон: +7 495 287 65 88 (ученый секретарь)

Адрес электронной почты: info@fnkc.ru