

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук Виноградовой Юлии Николаевны на диссертацию Харченко Евгении Владимировны «Прогностическое значение клинических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических характеристик диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 – онкология, 14.03.02 – патологическая анатомия.

Актуальность темы выполненной работы

Диффузные крупноклеточные В-клеточные лимфомы (ДВККЛ) составляют 30-58% всех неходжкинских лимфом и являются их самой распространенной нозологической формой. ДВККЛ нередко встречаются у лиц трудоспособного возраста, что обуславливает высокую социальную значимость данной патологии. В течение последних десятилетий, после внедрения в практику моноклонального антитела ритуксимаб, наблюдаются значительные успехи в лечении пациентов с ДВККЛ, однако у 30-40% больных, по-прежнему, наблюдаются рецидивы или резистентное течение заболевания.

Различия в клиническом течении заболевания и его исходах может говорить лишь о том, что ДВККЛ представляют собой гетерогенную группу заболеваний. У пациентов с ДВККЛ наблюдаются общие звенья патогенеза, но различные иммуногистохимические (ИГХ) и молекулярно-генетические особенности.

Основываясь на этих данных, новая классификация онкогематологических заболеваний Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2017 года разделила ДВККЛ без дополнительного уточнения (NOS) на молекулярные подтипы:

- лимфома с фенотипом клеток герминального центра (Germinal B-cell like-GCB);
- лимфома с фенотипом активированных В-клеток (activated B-cell-ABC).

Также впервые были выделены крайне редкие подтипы ДВККЛ:

- лимфома с перестройками в генах MYC, BCL-2 и/или BCL-6;

- В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности NOS (без перестроек в вышеупомянутых генах). В данную группу вошли случаи лимфом из предыдущей классификации ВОЗ 2008: В-клеточная лимфома, неклассифицируемая, с признаками промежуточными между ДВККЛ и лимфомой Беркитта, а также случаи атипической лимфомы Беркитта.

В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности с перестройками в генах MYC, BCL-2 и/или BCL-6 (альтернативным названием является DOUBLE-HIT (DH) лимфома, а при наличии перестроек во всех трех генах – TRIPLE-HIT (TH) лимфома) – крайне редкий и агрессивный подтип зрелых В-клеточных лимфом, который с учетом клинических и биологических характеристик должен быть выделен в отдельную нозологию из группы ДВККЛ с помощью анализа флуоресцентной гибридизации in situ (FISH). Данный метод не всегда доступен в условиях современной лаборатории. Агрессивность течения и низкие показатели выживаемости DH и TH лимфом обусловлены транслокациями в вышеупомянутых генах (Basso K., 2012; Reddy A. et al, 2017.]. В настоящее время недостаточно данных о влиянии моноперестройки в генах MYC или BCL-2, или BCL-6 на прогноз пациентов с ДВККЛ.

Таким образом, все вышесказанное диктует необходимость оценки прогностической значимости клинических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических особенностей ДВККЛ в рамках новой классификации ВОЗ 2017 года, а также оптимизации алгоритма диагностики ДВККЛ, в том числе, на предмет наличия перестроек в генах MYC, BCL-2, BCL-6 при отсутствии возможности рутинного использования метода FISH для улучшения диагностики и лечения пациентов. Это определяет актуальность данного исследования, направленное на разрешение имеющихся вопросов.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

В диссертационной работе Харченко Е.В. проведена комплексная оценка клинических, ИГХ и молекулярно-генетических характеристик.

Диссертация является завершенным научным исследованием, которое было выполнено в научном отделе инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации (на базе отделения гематологии и химиотерапии с палатой реанимации и интенсивной терапии) и в научной лаборатории морфологии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Диссертационное исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Научные положения диссертационной работы соответствуют паспортам специальности 14.01.12 онкология и 14.03.02 – патологическая анатомия (медицинские науки), пунктам 2 и 6.

Достоверность полученных результатов и выводов не вызывает сомнения. В диссертационном исследовании представлен репрезентативный материал 215 пациентов с ДВККЛ. Длительный период наблюдения и тщательный анализ данных, проведенный с использованием современных методов статистической обработки, позволяет судить о высокой достоверности полученных результатов. Представленный объем материала является достаточным для решения поставленных цели и задач, обеспечивает достоверность полученных результатов проведенной работы и сформулированных выводов. Полученные результаты сопоставимы с результатами международных исследований и согласуются с отечественными и зарубежными публикациями по данной тематике.

Все этапы диссертационной работы выполнялись при непосредственном участии автора. Автором самостоятельно проведен аналитический обзор отечественных и зарубежных данных по изучаемой проблеме, сформулированы цель и задачи исследования. Выполнен сбор данных на основе первичной документации, сбор биологического материала, разработана и заполнена электронная база данных. Подготовка серийных срезов с парафиновых блоков, окрашивание и оценка уровней экспрессии молекулярных маркеров, статистическая обработка результатов проводилась с личным участием автора. Соискателем лично осуществлен анализ и интерпретация полученных данных, сформулированы выводы, оформлена диссертационная работа.

Для статистической обработки полученных результатов применялись как методы непараметрической, так и параметрической статистики. Обработка данных осуществлялась при помощи современных статистических программ. Первичные данные вносились в базу данных Microsoft Office Access. Статистический анализ проводился на персональном компьютере с использованием программы IBMS PSS Statistics версии 17.0 с расширенным модулем для анализа выживаемости. Непараметрические данные анализировались с использованием теста Х² или точного критерия Фишера. Показатели выживаемости рассчитывались методом Kaplan-Meier, различия оценивались Log-Rank тестом. Для выявления прогностической значимости факторов использовался однофакторный и многофакторный регрессионный анализ Соx, со стандартной ошибкой и 95% доверительным интервалом. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, включая 5 работ в журналах, рецензируемых ВАК. Получена приоритетная справка на изобретение по заявке на патент РФ «Способ дифференциальной диагностики диффузных В-клеточный крупноклеточных лимфом» № 2020108031 от 21.02.2020.

Научная новизна диссертационного исследования

Диссертационная работа отвечает критерию научной новизны. В ней впервые оценена прогностическая значимость ряда иммуногистохимических (CD5, CD30, p53, коэкспрессия c-myc и bcl-2, bcl-6) и молекулярно-генетических маркеров (перестройки в генах MYC, BCL-2, BCL-6) в рамках новой классификации ВОЗ 2017 года. Впервые оптимизирован алгоритм диагностики ДВККЛ с учетом новой классификации ВОЗ 2017 года, в том числе на предмет наличия перестроек в генах MYC, BCL-2, BCL-6 при отсутствии возможности рутинного использования метода FISH.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Подвергнутые всестороннему статистическому анализу показатели выживаемости пациентов с ДВККЛ с учетом клинических, ИГХ и молекулярно-генетических особенностей позволяют, убедительно аргументировать целесообразность проведения комплексных диагностических мероприятий для выделения группы пациентов с неблагоприятным прогнозом.

Оптимизированный алгоритм диагностики ДВККЛ с учетом новой классификации ВОЗ 2017 года, в том числе на предмет наличия перестроек в генах MYC, BCL-2, BCL-6 при отсутствии возможности рутинного использования метода FISH позволяет без проведения ресурсозатратных анализов профиля экспрессии генов и в большинстве случаев-FISH выделить пациентов с агрессивными формами ДВККЛ.

Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному плану и изложена на 129 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, характеристики материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов с заключением, выводов и практических рекомендаций. Работа содержит 16 таблиц, 51 рисунок.

Во введении показана актуальность темы исследования, степень разработанности темы, отображен личный вклад автора, корректно сформулированы цель и задачи работы, определены научная новизна, практическая значимость и положения, выносимые на защиту. Согласно целям и задачами, диссертационное исследование направлено на изучение клинических, ИГХ и молекулярно-генетических характеристик ДВККЛ.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором проведен исчерпывающий анализ современных представлений о ДВККЛ: современная классификация ВОЗ, клинические особенности течения заболевания, обзор различных ИГХ маркеров и их влияние на прогноз и агрессивность течения заболевания (с-тус, bcl-2, CD 30, CD 10, CD 5, p 53, bcl 6), а также молекулярные подтипы ДВККЛ. Приводятся актуальные сведения об эффективности различных

подходов в лечении ДВВКЛ и их эффективность в зависимости от подтипа. Обзор литературы демонстрирует глубокое понимание автором исследуемого вопроса и определяет цель и задачи диссертационной работы, а также пути их решения.

Во второй главе автором приводится характеристика 215 больных с ДВККЛ, включенных в исследование. В основе работы лежит ретроспективный анализ клинических, ИГХ и молекулярно-генетических данных пациентов с ДВККЛ, получавших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова с 2010 по 2016 гг. Проспективно автором было продолжено динамическое наблюдение за пациентами до марта 2019 г. Описан дизайн проведенного исследования, метод ИГХ и флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Также приводится описание статистических методов, использованных для обработки результатов исследования. Достоверность сделанных выводов подтверждается достаточным объемом выборки и корректным использованием статистических методов.

В третьей главе диссертационной работы представлены результаты проведенных исследований. Оценены клинические, ИГХ и молекулярно-генетические особенности ДВККЛ (в том числе с перестройками в генах MYC/BCL-2/BCL-6 и с двойной экспрессией белков c-myc и bcl-2), а также их прогностическая значимость. Ряд клинических проявлений заболевания были ассоциированы с более низкими показателями беспрогрессивной выживаемости (ВВП): В-симптомы (медиана 12 мес.) против 56 мес. без В-симптомов, $p=0,034$; III-IV стадия заболевания (медиана 14 мес. против медиана не достигнута для I-II стадий, $p=0,016$); первично-рефрактерное течение ДВККЛ (медиана 5,0 мес. против медиана не достигнута при отсутствии первично-рефрактерного течения, $p < 0,001$). Среди ИГХ маркеров пациенты с экспрессией CD 10 (т.е. GCB-подтипом) имели меньший риск развития рецидива в сравнении с пациентами с отрицательной экспрессией CD 10 ($p=0,049$).

Четвертая глава диссертации содержит обсуждение полученных результатов и резюмирует все выше изложенное. Автором приведено критическое сопоставление собственных и литературных данных и предлагаются направления для будущих исследований. В этой главе также представлен оптимизированный алгоритм для диагностики лимфом высокой степени злокачественности с перестройками в генах

MYC, BCL2, BCL6 при отсутствии возможности рутинного использования FISH: подробно описана технология выполнения анализа, представлена графическая схема.

Диссертация заканчивается выводами, которые соответствуют задачам исследования и следуют из полученных результатов. Выводы статистически достоверны, корректно сформулированы и являются основой для сформулированных практических рекомендаций. Список сокращений составлен корректно.

Список литературы включает 10 отечественных и 119 зарубежных источников. Библиографический указатель полностью соответствует ссылкам в тексте.

Автореферат полностью отражает содержание диссертационного исследования.

Считаю необходимым в качестве дискуссии задать следующий вопрос: «Известно, что ДВККЛ, экспрессирующие CD5, обладают худшим прогнозом по сравнению с ДВККЛ без данной экспрессии. С чем Вы связываете отсутствие статистически значимых различий в результатах Вашей работы у пациентов с и без экспрессии CD5?»

Заключение

Диссертационная работа Харченко Е.В. «Прогностическое значение клинических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических характеристик диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 – онкология и 14.03.02 – патологическая анатомия является самостоятельной законченной научной квалификационной работой, характеризующейся научной новизной и практической значимостью, а также соответствующей паспортам обеих специальностей.

Актуальность изученной темы, применение современных методов исследования, достаточный объем полученных данных и их корректная научная

трактовка позволяют заключить, что данная диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями от 01.10.2018 г, № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Харченко Евгения Владимировна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.12 – онкология и 14.03.02 – патологическая анатомия.

Руководитель отдела лучевых
и комбинированных методов лечения,
главный научный сотрудник
Федерального государственного
бюджетного учреждения
«Российский научный центр
радиологии и хирургических технологий
имени академика А.М. Гранова»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
доктор медицинских наук

Виноградова Юлия Николаевна

Подпись д.м.н. Виноградовой Ю.Н. заверяю

Директор Центра
доктор медицинских наук

08.06.2020г



Майстренко Дмитрий Николаевич

197758, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Ленинградская, д. 70

Тел.: +7 (812) 596-84-62; E-mail: info@rrcrst.ru