



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное учреждение
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ДЕТСКОЙ ГЕМАТОЛОГИИ, ОНКОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ
ИМЕНИ ДМИТРИЯ РОГАЧЕВА»**
(ФГБУ «НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России)

ОТЗЫВ

Отзыв официального оппонента

доктора медицинских наук, профессора Масчана Михаила Александровича на диссертацию Палладиной Александры Дмитриевны «Определение минимальной остаточной болезни при остром миелоидном лейкозе у детей», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы исследования

Острые миелобластные лейкозы (ОМЛ) у детей являются вторым по частоте вариантом острого лейкоза у детей. Несмотря на общее улучшение результатов лечения, выживаемость пациентов детского возраста с ОМЛ не превышает 70% и существенно уступает результатам терапии острого лимфобластного лейкоза. Терапия ОМЛ основана на применении множественных курсов высокодозной химиотерапии, и, для пациентов группы высокого риска, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от аллогенного донора. Группа риска определяется на основании ряда генетических маркеров и, в последние годы, на основании прецизионной оценки ответа на терапию. Морфологические критерии ремиссии заболевания признаны недостаточно чувствительными для оценки остаточной опухолевой популяции. Использование метода мультипараметрической проточной цитометрии для количественной оценки минимальной остаточной болезни (МОБ) стало ключевым инновационным методом, позволяющим оценивать ответ на терапию независимо от генетических aberrаций, лежащих в основе заболевания. Метод проточной цитометрии в диагностике и мониторинге МОБ при ОМЛ основан на детекции комбинаций поверхностных маркеров, не являющихся

специфичными для опухоли, но формирующими уникальный паттерн, обозначаемый как аберрантный иммунофенотип. Системный и стандартизованный подход к формированию панели антител, выбору флуорохромов и стратегии гейтирования является необходимым условием успешного клинического применения метода проточной цитометрии при ОМЛ у детей. Разработке такого подхода посвящена настоящая диссертационная работа и ее актуальность определяется тяжестью патологии и потенциальным местом метода в общей стратегии улучшения результатов терапии ОМЛ у детей.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Положения и выводы, представленные в диссертации, являются вполне обоснованными. Исследования проведены у 137 детей при диагностике, у 28 детей - в процессе лечения при определении минимальной остаточной болезни. С учетом частоты острого миелоидного лейкоза у детей, группа репрезентативна в разделе диагностики и позволяет презумптивно идентифицировать ключевые тренды в части оценки минимальной остаточной болезни. Исследования проведены основательно, во всех случаях осуществлен морфоцитохимический анализ злокачественных клеток при диагностике, а в случаях определения остаточной болезни представлены данные миелограммы с обязательным указанием процента бластных клеток на момент исследования. Иммунофенотипирование 8-цветной проточной цитометрией проведено с использованием достаточного набора антител, специфично идентифицирующих маркеры различных клеточных линий и стадий гемопоэза. Скрининг маркеров ОМЛ при диагностике явился базисом для последующего определения МОБ. Подход к выбору панели антител и анализу отражает современные тенденции. Все данные тщательно проанализированы, представлены в виде таблиц и рисунков, которые

адекватно отражают наблюдение. Выводы непосредственно вытекают из результатов работы.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Научная ценность работы А.Д. Палладиной состоит в том, что при исследовании бластных клеток ОМЛ у 137 детей, из которых 28 изучены в процессе лечения, установлены фундаментальные подходы к детекции МОБ, основанные на точной идентификации линии и стадии дифференцировки злокачественных клеток, а также экспрессии линейно не соответствующих лимфоидных маркеров. Получены новые данные относительно особенностей поверхностного иммунофенотипа бластных клеток острого миелоидного лейкоза у детей. Показано, что иммунологический фенотип миелобластов весьма гетерогенен, поэтому подробное стандартизованное иммунофенотипирование в дебюте заболевания является совершенно необходимым для установления набора маркеров, которые могут быть использованы для детекции МОБ.

Показана роль в диагностике МОБ антигенов незрелых клеток CD117, CD34, общемиелоидных маркеров CD13, CD33, линейно-ассоциированных антигенов различных ростков миелоидной линии, а также Т- и В-линейных детерминант CD7, CD19.

Несомненно важным явилось обнаружение связи рецептора CD19 с вариантом ОМЛ с созреванием (M2), а также транслокацией 8;21, и, что особенно важно, именно экспрессия именно экспрессия CD19, а не вариант лейкоза или наличие транслокации был достоверно взаимосвязан с частотой ремиссий при проведении однофакторного анализа.

Научный интерес и клиническую значимость представляет предложенный подход к оценке МОБ при данном заболевании, сопоставленный с клиническим течением опухолевого процесса

Автором впервые сформулирован подход к оценке остаточной опухолевой нагрузки при редком злокачественном новообразовании: опухоли из бластных плазмцитоидных дендритных клеток, что представляет несомненный научный и клинический интерес.

Представленная на защиту диссертационная работа является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой. Все данные базируются на солидном методическом фундаменте. Полученные выводы полностью обоснованы и соответствуют содержанию работы.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

Результаты исследования подробно и полно описаны в открытой печати. По теме диссертации опубликованы 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК России.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, главы «Характеристика больных и методы исследования», главы 3 «Минимальная остаточная болезнь при ОМЛ детского возраста», главы 4 «Определение МОБ при опухоли из плазмцитоидных дендритных клеток», главы 5 «Роль иммунологических маркеров в прогнозе ОМЛ», обсуждения и заключения, выводов, списка литературы. Диссертация написана на 135 страницах машинописного текста, список литературы включает 176 отечественных и зарубежных источников.

В разделе «Актуальность темы и степень её разработанности» введения автор четко обосновывает необходимость совершенствования методов оценки МОБ при ОМЛ у детей на основе проточной цитометрии, как метода, дающего наиболее точные количественные характеристики резидуальных опухолевых клеток, независимо от генетической абберации, лежащей в основе формирования опухолевого фенотипа. Четко представлены цель и задачи исследования.

Обзор литературы написан на 28 страницах, состоит из 4 подразделов, посвященных биологии, классификации, диагностике ОМЛ у детей, а также иммунофенотипированию в оценке глубины ремиссии ОМЛ и минимальной остаточной болезни. Большое внимание уделено мегакариобластным лейкозам. Прочтение литературного обзора свидетельствует о глубоком знании автором острого миелобластного лейкоза у детей, понимании ключевых направлений совершенствования диагностики и лечения заболевания.

«Характеристика больных и методы исследования». Эта глава дает полное представление о включенных в исследование пациентах и методической части работы. Хочу подчеркнуть, что несмотря на современный уровень исследования проточной цитометрией автор подчеркивает роль морфоцитохимии как основного метода диагностики острого миелобластного лейкоза, этот метод применен на всех этапах диагностики и определения МОБ. Это большой плюс работы. Большое внимание автор уделяет описанию панели моноклональных антител, подход детально обоснован, панель сформирована таким образом, что позволяет охарактеризовать все ростки гемопоэза при диагностике, включая признаки aberrантности, выбрать сочетание антител для мониторинга МОБ. Особенно подчеркну, что использован 8-цветный анализ.

В главе «Минимальная остаточная болезнь при ОМЛ детского возраста» приводятся основные результаты работы. 3 раздела - диагностика МОБ при коэкспрессии CD7, CD56, CD64; диагностика МОБ при коэкспрессии В-линейных антигенов и диагностика МОБ при мегакариобластном варианте ОМЛ – полностью иллюстрируют полученные результаты. Автор приводит графики – цитограммы проточно-цитометрического распределения клеток, особенности гейтирования, то есть выделения окна злокачественных миелоидных предшественников для анализа. Характеристика МОБ дается в сопоставлении с первичным иммунофенотипом лейкоза. Чувствительность определения в ряде случаев

достигала 10^{-5} , однако, в качестве порогового значения при диагностике МОБ выбран критерий 0,1%, что соответствует данным мировой литературы. Именно при этом пороговом значении получены данные по безрецидивной выживаемости, близкие к достоверным, $p=0,09$. Экспрессия антигена CD19 была ассоциирована с вариантом лейкоза M2 и транслокацией t(8;21). Доказана высокая информативность оценки лимфоидных антигенов на клетках ОМЛ при мониторинге МОБ.

Применение антител к антигенам мегакариоцитарной линии - CD41, CD42a и CD42b, CD61 - позволяет надежно диагностировать мегакариобластный вариант лейкоза M7. В работе установлено 7 случаев данного редкого варианта лейкоза. Доказана необходимость использования наряду с мегакариоцитарными маркерами также других маркеров МОБ, включая лимфоидно-ассоциированные антигены.

В работе приводится описание диагностики и определения МОБ при крайне редком варианте – опухоли из бластных плазмцитоподобных дендритных клеток (глава 4). В силу редкости данного варианта каждый случай представляет большую ценность, автор приводит описание необходимых для установления МОБ маркеров, результаты этих определений и делает важный вывод о необходимости установления пропорции CD56-позитивных клеток среди CD123+ CD4+ клеток.

Описанию роли иммунологических маркеров в прогнозе ОМЛ у детей посвящена глава 5 диссертации А.Д. Палладиной. В этой главе сопоставлены частоты достижения ремиссий с экспрессией ряда антигенов. При наличии антигена CD19 на клетках ОМЛ у детей отмечена высокая частота достижения ремиссий (100%), что достоверно выше, чем в антиген-негативных случаях (81,2%). Это единственный иммунологический признак, столь четко коррелировавший с частотой достижения полных ремиссий.

«Обсуждение и заключение». В этой главе автором критически анализируются полученные результаты в сопоставлении с данными других отечественных и зарубежных исследовательских групп. Предложенный А.Д.

Палладиной подход к диагностике МОБ, основанный на детальном изучении первичного иммунофенотипа ОМЛ у детей, позволяет точно соотнести особенности иммунофенотипа злокачественных миелобластов при диагностике лейкоза с данными, полученными в сроки оценки МОБ. Это, несомненно, важно и должно учитываться в работах данного направления исследований.

9 выводов диссертации логично вытекают из полученных автором результатов и не вызывают возражений.

Принципиальных замечаний по существу выполненной работы и представленных данных нет. Недостатком работы является ограниченный объем выборки, что не позволяет выполнить многофакторный анализ и оценить независимость прогностического влияния отдельных факторов риска. Данный недостаток обусловлен орфанным характером ОМЛ у детей и не влияет существенно на достоверность выводов.

Автореферат в полной мере отражает основные положения диссертационной работы. По теме диссертации опубликованы 4 работы в журналах, рекомендованных ВАК.

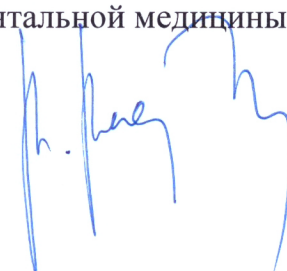
Заключение

Диссертация Палладиной Александры Дмитриевны «Определение минимальной остаточной болезни при остром миелоидном лейкозе у детей» является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором разработок осуществлено решение научной задачи определения минимальной остаточной болезни при острых миелоидных лейкозах у детей методом многоцветной проточной цитометрии, имеющей значение для онкологии.

По своей актуальности, уровню и объему проведенных исследований, научной новизне полученных результатов и их практической значимости, способу решения поставленных задач диссертационная работа Палладиной А.Д. полностью соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в

редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Заместитель генерального директора,
директор Института молекулярной и экспериментальной медицины
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор
Михаил Александрович Масчан



«16» 05 2022 г.

Подпись д.м.н., профессора, Масчана М.А. заверяю
Главный ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор
Спиридонова Елена Александровна



Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1, ГСП-7, 117997 Тел.: +7 495 287 65 70
e-mail: info@fnkc.ru