

Отзыв официального оппонента

доктора биологических наук Ковригиной Аллы Михайловны на диссертационную работу 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

Современная стратегия терапии острых миелоидных лейкозов предполагает детекцию минимальной остаточной (измеримой) болезни (МОБ), основанную в соответствии с рекомендациями Европейской сети по изучению лейкозов (ELN 2018, 2021) на сочетании методов многоцветной проточной цитометрии и количественной ПЦР. Определение МОБ в динамике позволяет корректировать тактику химиотерапии, планировать трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Вместе с тем, устойчивые генетические аномалии, служащие основой мониторинга опухолевого транскрипта с помощью количественной ПЦР, у детей с острыми миелоидными лейкозами встречаются достаточно редко (<30%), поэтому методу многоцветной проточной цитометрии принадлежит ведущая роль в детекции и мониторинге МОБ у детей, и согласно мировым данным, этот метод детекции МОБ используется более чем в 90% случаев острых миелоидных лейкозов у детей. Современные подходы к диагностике МОБ с помощью многоцветной проточной цитометрии предполагают сочетание в используемой панели маркеров, характеризующих лейкоз-ассоциированный иммунофенотип (LAIP), и иммунофенотип, отличный от «нормальных» миелоидных клеток (DfN), базовыми маркерами являются: CD34, CD117, CD45, CD33, CD13, CD56, CD7, HLA-DR. Вместе с тем, диагностика МОБ при острых миелоидных лейкозах до сих пор не стандартизирована, что обусловлено отсутствием устойчивого лейкозного иммунофенотипа в дебюте заболевания и в процессе терапии, вариабельностью иммунофенотипа опухолевой популяции в процессе терапии с различным сочетанием маркеров

ранних гемопоэтических клеток, миелоидных и миелоидно-ассоциированных маркеров, лимфоидных маркеров, что характеризует выраженные явления аберрантности иммунофенотипа.

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

В работе проанализированы данные, полученные при обследовании 137 детей больных острым миелоидным лейкозом в возрасте от 3-х месяцев до 17 лет (медиана - 7 лет). Всем больным при диагностике проводилось детальное морфологическое (исследование пунктата костного мозга, миелограмма) и иммунофенотипическое исследование, охарактеризовано 7 морфоиммуноцитохимических вариантов, диагностирована бластная опухоль из плазмочитоидных дендритных клеток с поражением костного мозга. Иммунофенотипирование включало оценку маркеров всех ростков миелопоэза и клеток-предшественниц, в большинстве случаев оно основывалось на современной 8-цветной панели антител и включало до 60 маркеров различных клеточных линий, что позволило обоснованно отобрать наиболее информативные антигены для последующей оценки МОБ. Минимальная остаточная болезнь на основании этих данных была изучена у 28 детей в процессе лечения. Широкий спектр панели используемых маркеров позволил идентифицировать МОБ и охарактеризовать варианты аберрантности иммунофенотипа. Анализ полученных результатов подтверждает обоснованность научных положений и выводов, представленных в диссертации.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

В диссертационной работе на основании комплексного иммунологического и цитоморфологического анализа бластных клеток костного мозга больных острым миелоидным лейкозом при первичной диагностике иммунофенотипически была детально охарактеризована опухолевая популяция, а также были выявлены показатели аберрантности иммунофенотипа, что позволило их использовать для оценки МОБ в процессе терапии. Установлена

прогностическая значимость иммунологических маркеров бластных клеток при остром миелоидном лейкозе. Оценка выживаемости проводилась на основании сравнения кривых Каплана-Майера. Все данные подвергнуты полноценной статистической обработке.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

Все основные положения исследования представлены в печатных работах, опубликованных по теме диссертации. Наиболее подробно результаты работы изложены в 4 статьях, опубликованных в журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК.

Ценность для науки и практики проведенной соискателем работы

Ценность работы А.Д. Палладиной для науки и практики состоит в том, что на основании большого и трудоемкого анализа собственных полученных данных по определению комплексного иммунофенотипа опухолевой популяции впервые охарактеризованы основные подходы и критерии диагностики минимальной остаточной болезни при остром миелоидном лейкозе у детей. Показано, что критерии точной диагностики МОБ закладываются при первичном иммунофенотипировании бластных клеток субстрата острого миелоидного лейкоза на момент установления диагноза. В целях последующего мониторинга МОБ в процессе терапии для характеристики иммунофенотипа и обнаружения aberrантного иммунофенотипа опухолевых клеток с помощью метода многоцветной проточной цитометрии требуется оценка до 60 маркеров клеток гранулоцитарной, моноцитарной, эритроидной, мегакариоцитарной, лимфоидной линий гемопоэза. Другим важным и ценным для науки аспектом работы является установление прогностической значимости иммунологических маркеров бластных клеток, наиболее значимым из которых явился В-линейный антиген CD19. Несомненно новым и очень важным является разработка подходов и оценка МОБ при бластной опухоли из плазмацитоидных дендритных клеток.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа построена по традиционному плану, изложена на

135 страницах машинописного текста. Список литературы включает 13 отечественных и 163 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 25 рисунками и 34 таблицами.

Во введении четко сформулированы актуальность, цели и задачи исследования.

В обзоре литературы подробно рассмотрены вопросы патобиологии ОМЛ, классификации, диагностики этого заболевания, факторов прогноза, роли иммунофенотипирования для детекции минимальной остаточной болезни, в особенности с применением современных 8-параметровых панелей антител. Автор делает обоснованное заключение о том, что для полноценного внедрения в практику определения МОБ при остром миелидном лейкозе методом проточной цитометрии необходимо формирование протоколов выполнения исследования, учитывающих минимальную популяцию аберрантных клеток, минимальное общее количество событий, необходимого для определения МОБ-статуса, и максимально подробную и стандартизованную характеристику иммунофенотипа опухоли при первичной диагностике.

В главе «Характеристика больных и методы исследования» приводится характеристика больных по полу и возрасту. Диагноз во всех случаях был установлен на основании клинико-гематологических показателей, морфо-цитохимического и иммунофенотипического исследований костного мозга, были выполнены цитогенетическое и молекулярное исследования. В диссертационной работе приводится подробное описание моноклональных антител и флуорохромов, особое внимание уделено 8-цветным панелям антител, особенностям гейтирования бластных клеток. Подробно описаны протоколы лечения больных острым миелоидным лейкозом. Подчеркнуто, что при определении минимальной остаточной болезни панель антител составляли индивидуально для каждого случая согласно первичному иммунофенотипу бластных клеток пациента, анализировали 2 миллиона клеток. Все данные подвергнуты полноценной статистической обработке.

Глава свидетельствует о высоком методическом уровне исследования,

замечаний нет.

Глава 3 «Минимальная остаточная болезнь при ОМЛ детского возраста» посвящена результатам определения МОБ при остром миелоидном лейкозе у детей и является по существу центральной в диссертации. Приводятся данные как в целом по группе больных острым миелоидным лейкозом, так и при особых случаях с aberrантной экспрессией лимфоидных антигенов CD7, CD56. Обнаружение коэкспрессии лимфоидно-ассоциированных маркеров является надежным указанием на наличие МОБ, однако в случаях их отсутствия необходимо комплексно оценивать иммунофенотип клеток с учетом линейной принадлежности и экспрессии иных антигенов. Это обусловлено тем, что лимфоидно-ассоциированные антигены при диагностике могут быть экспрессированы не на всех бластных клетках.

Детально рассмотрены острые мегакариобластные лейкозы, МОБ при которых изучена у группы из 7 больных, которая, с учетом редкости данного варианта, безусловно является репрезентативной и крайне интересной для исследования. Убедительно доказано, что применение комплекса антител к антигенам мегакариоцитарной линии (CD41, CD42, CD61) наряду с общемиелоидными антигенами, стволовоклеточными антигенами и лимфоидно-ассоциированными антигенами позволяет наиболее надежно определять остаточные лейкозные клетки при варианте M7.

В главе 4 даны результаты исследования МОБ при крайне редком варианте – из бластных плазмцитоподобных дендритных клеток. Накопление знаний об этом варианте заболевания требует детального описания каждого случая. Автор помимо детального описания диагностических находок приводит результаты исследований в динамике в процессе лечения больного. Сделан важный и обоснованный вывод: диагностика минимальной остаточной болезни при опухоли из бластных плазмцитоподобных дендритных клеток должна основываться не только на признаках aberrантности, но и на соотношении $CD123^+CD4^+CD56^+$ / $CD123^+CD4^+CD56^-$ клеток.

В главе 5 описана роль иммунологических маркеров в прогнозе острого

миелоидного лейкоза. При анализе клинических, морфоцитохимических и иммунофенотипических данных у 135 детей с острым миелоидным лейкозом установлено, что единственным признаком, имевшим достоверную связь с частотой полных ремиссий, явился антиген CD19. При наличии антигена на бластных клетках ремиссии были достигнуты в 100% случаев, что достоверно выше, чем в группе сравнения (81,2%).

Диссертация завершается **главой «Обсуждение и заключение»**, в которой проводится сопоставление полученных автором данных с результатами исследований других исследовательских групп. Автор демонстрирует блестящее знание литературы по изучаемому вопросу, что позволило ей интересно написать данную главу, обсуждая собственные результаты исследования. Анализ этих данных указывает, что примененный в работе подход позволяет диагностировать МОБ на основе особенностей иммунофенотипа конкретного больного, что является наиболее точным и позволяет учесть все индивидуальные особенности бластной популяции клеток.

В работе 9 выводов, которые логично вытекают из результатов исследования.

Принципиальных замечаний по существу выполненной работы и представленных данных нет.

Автореферат содержит основные положения диссертационной работы.

В качестве пожеланий автору для дальнейших исследований прогностических факторов при остром миелоидном лейкозе следует отметить важность сопоставления количества лейкоцитов, значений опухолевых транскриптов при количественной ПЦР и параметров МОБ, определяемых с помощью многоцветной проточной цитометрии, при различных морфоиммунологических вариантах острого миелоидного лейкоза у детей.

Заключение

Диссертационное исследование Палладиной Александры Дмитриевны «Определение минимальной остаточной болезни при остром миелоидном лейкозе у детей» является законченной, самостоятельной научно-квалификационной

работой, выполненной на высоком научном и методическом уровне с использованием современных методов исследования, в которой на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение научной задачи определения минимальной остаточной болезни при острых миелоидных лейкозах у детей методом многоцветной проточной цитометрии.

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.

Заведующий патологоанатомическим отделением
ФГБУ «НМИЦ гематологии» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
доктор биологических наук

Ковригина Алла Михайловна
«16» мая 2022г.

Подпись д.б.н. А.М. Ковригиной заверяю

Ученый секретарь

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,

кандидат медицинских наук

Джулакян Унан Левонович

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

Адрес: Москва, 125167, Новый Зыковский проезд, д. 4 Тел. +7 (495) 612-13-31 e-mail: director@blood.ru
www.blood.ru