

Утверждаю

Ректор Института усовершенствования врачей

ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Доктор медицинских наук, профессор

Л.Д. Шалыгин

«25» июня 2019

ОТЗЫВ

Официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Деминой Елены Андреевны на диссертационную работу Моженковой Анны Васильевны на тему «Иммуноморфологические особенности опухолевого клона и клеток окружения в костном мозге при фолликулярной лимфоме», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Актуальность проблемы.

Фолликулярная лимфома это лимфоцитарная зрелоклеточная опухоль, происходящая из фолликула лимфоузла, и по характеру течения относится к инделентным лимфомам. Она составляет 30-40% среди всех лимфом у взрослых, болеют преимущественно в старшем возрасте (медиана 60 лет), но встречается также и в детском. Клинически фолликулярная лимфома выражается в первичном поражении лимфатических узлов, но характеризуется ранней диссеминацией в селезенку, печень, костный мозг. Морфологическая характеристика лимфоидных клеток костного мозга свидетельствует о гетерогенности опухолевого пула: среди лимфоидных

клеток присутствуют, как мелкие клеточные элементы – центроциты, так и крупные центробласты. В настоящее время в онкогематологии большое внимание уделяется построению различных прогностических моделей, включающих как базовые клинические данные до начала лечения, так и морфологические характеристики самой опухоли и ее микроокружения, а для оценки противоопухолевого ответа используют определение минимальной остаточной болезни. Большие надежды возлагаются на суррогатные иммуногистохимические прогностические маркеры, но, несмотря на большое количество публикаций, ни один из маркеров в настоящее время не используется в рутинной клинической практике, так как доступность большинства из них ограничена. Поэтому, по-прежнему, внимание исследователей привлекают вопросы нарушения гомеостаза у больных фолликулярной лимфомой с разным типом лимфоидных клеток, особенности иммунологического профиля опухоли с разным клеточным составом, проблемы соответствия данных цитологического исследования костного мозга и результатов трепанобиопсии в настоящее время. Роль микроокружения в патогенезе фолликулярной лимфомы неоспорима, что позволяет при лечении этих пациентов эффективно использовать иммуномодулирующие препараты, такие как леналидомид и ингибиторы контрольных точек.

Предметом исследования данной работы явилось детальное изучение типов опухолевых клеток при фолликулярной лимфоме с помощью морфологического, иммунофенотипического методов с привлечением высоко технологичного подхода использования компьютерной микроскопии. Полученные результаты дали возможность оценить состояние кроветворения больных, показатели клеток микроокружения в зависимости от характеристики опухоли. Поэтому поставленная проблема является чрезвычайно актуальной, представляющей большой научный интерес, а

актуальность диссертационной работы А.В. Моженковой, посвященной изучению опухолевого и нормального гемопоэза при фолликулярной лимфоме не вызывает сомнения.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна.

Исследование имеет высокую степень обоснованности, что подтверждается проведенными автором морфологическими, иммунофенотипическими методами исследования на значительном фактическом материале (152 пациента) с привлечением современных компьютерных микроскопических технологий и современных методов статистического анализа.

Заявленной целью исследования явилась оценка кроветворения больных фолликулярной лимфомой на разных стадиях заболевания в зависимости от характеристики клеток опухоли и клеток окружения нормального гемопоэза. В работе были применены морфологические подходы с детальным анализом различных параметров опухолевых клеток с использованием подсчета лимфоцитограммы. Исследовался иммунофенотипический профиль разных типов опухолевых лимфоидных клеток. Сопоставление особенностей структуры ядер опухолевых клеток с нормальными лимфоцитами проводился на основании применения компьютерной микроскопии. Современные методы исследования, достаточная группа пациентов, статистическая обработка полученных данных позволяют сделать вывод о том, что рецензируемая диссертационная работа соответствует поставленным задачам. Полученные выводы являются достоверными, полностью обоснованными и соответствуют содержанию работы.

Научная новизна.

Морфо-иммунофенотипическое детальное изучение опухолевого субстрата при фолликулярной лимфоме позволило выявить корреляцию изменения между типом клеток лимфоидного клона и отдельными гематологическими параметрами. Установлен полиморфизм опухолевых клеток у больных фолликулярной лимфомой как по морфо-иммунологическим показателям, так и по их функциональным особенностям. При сопоставлении результатов анализа миелограмм и данных трепанобиопсий установлены различия в характеристике опухолевого субстрата в костном мозге и в разных экстрамедуллярных очагах лимфомы.

Значимость для науки и практики результатов диссертации и конкретные пути их использования.

Проведенный автором анализ результатов исследования, полученных на основании комплексного исследования костного мозга (миелограмма и данные трепанобиопсии костного мозга) и образцов периферической крови у больных фолликулярной лимфомой с применением морфо-иммунофенотипических и компьютерных микроскопических технологий позволил установить характерные морфо-иммунологические и функциональные особенности различных типов клеток опухолевого клона и их связь с отдельными гематологическими параметрами. Полученные данные имеют практическое диагностическое значение, поскольку показывают, что алгоритм обследования пациентов наряду с биопсией опухоли, обязательно должен включать не только пункцию, но и трепанобиопсию костного мозга, так как выполнение полного объема обследования позволяет более точно определить опухолевую нагрузку, прогноз течения заболевания и выбрать адекватную программу лечения.

Степень завершенности диссертации и качество оформления.

Работа выполнена на основании анализа комплексного исследования костного мозга (миелограма и данные трепанобиопсии костного мозга) и образцов периферической крови у больных фолликулярной лимфомой с применением морфо-иммунофенотипических и компьютерных микроскопических технологий у 152 больных с впервые выявленной фолликулярной лимфомой, находившихся под наблюдением ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Оценка содержания диссертации. Работа является законченным диссертационным исследованием, выполнена в традиционном стиле, изложена на 102 страницах машинописного текста, содержит 9 рисунков, 28 таблиц и состоит из введения и 3 глав: «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты исследования», заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Список литературы содержит 133 литературных источника, из них 16 отечественных и 117 зарубежных.

Во **введении** автором изложена актуальность диссертационного исследования, его цели и задачи. Определена практическая значимость исследования, изложены положения, выносимые на защиту.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати.

Полученные в диссертации данные отражены в 5 оригинальных статьях в журналах, рекомендованных в перечне ВАК Министерства образования и науки РФ для публикаций материалов диссертаций. Основные положения были представлены и обсуждены на российских форумах.

Во введении отражены актуальность работы, обозначены цель исследования и соответственно задачи для ее решения. Проведено обоснование научной новизны, теоретической и практической значимости работы. Представлена методология исследования и статистической обработки результатов. Указаны положения, выносимые на защиту.

Первая глава – Обзор литературы занимает 19 страниц текста. В нем достаточно полно отражены сведения, касающиеся истории вопроса классификаций фолликулярной лимфомы. Большой раздел посвящен вопросу современного понимания патогенеза В-лимфопрлиферативных заболеваний и месту фолликулярной лимфомы среди них, а также патогенезу самой фолликулярной лимфомы. Представляет интерес анализ спорных вопросов при морфологическом исследовании костного мозга, роль иммунофенотипирования для диагноза фолликулярной лимфомы. В обзоре обсуждается необходимость обязательного изучения костного мозга при лимфопрлиферативных заболеваниях для установления стадии процесса.

Во второй главе приведены клиничко-лабораторные характеристики 152 пациентов с впервые выявленной фолликулярной лимфомой, описаны используемые методики исследования и типы лимфоидных клеток у пациентов с поражением костного мозга. В соответствии с задачами исследования для изучения гемопоэза больные разделены на 3 группы в зависимости от наличия или отсутствия опухолевого поражения костного мозга. В 33 случаях с метаплазией в костный мозг лимфомы проводились подсчет лимфоцитогаммы и иммунофенотипирование патологических лимфоидных клеток с широкой палитрой антител.

Третья глава посвящена изложению результатов анализа гемопоэза больных в зависимости от стадии заболевания, от наличия или отсутствия лимфомного поражения костного мозга, типа клеток лимфомного пула, выявляемой в периферической крови лейкомизации. Автору удалось установить, что при фолликулярной лимфоме наиболее часто страдает эритроидный росток, реже

тромбоцитарный и остается интактным нейтрофильный. Степень анемии и тромбоцитопении нарастает от I к III стадии заболевания, что подтверждает данные литературы. Однако цитопения не коррелирует с наличием поражения костного мозга. В ряде случаев при интактном костном мозге и нормальной миелограмме у больных было констатировано снижение показателей гемоглобина. Следовательно, наличие экстрамедуллярных очагов фолликулярной лимфомы может опосредованно негативно влиять на функции красного ряда гемопоэза и способствовать анемии. Снижение красного и тромбоцитарного ростков по данным периферической крови было одинаковым при центробластном и центроцитарном типе опухоли. С клинической точки зрения интерес представляет сравнительный анализ двух типов клеток опухолевого клона. Центроцитарный и центробластный типы различаются не только по морфологическим параметрам, но и по иммунному профилю. Клетки центробластного типа достоверно чаще экспрессируют антиген CD38, что по литературным сведениям является фактором неблагоприятного прогноза. Кроме того, интересно, что клетки разных типов также неодинаковы по своим функциональным особенностям, центробласты, в противоположность центроцитам, определяются только в костном мозге и не выплывают в периферическую кровь. Лейкемизация при фолликулярной лимфоме обусловлена лимфоидными клетками центроцитарного типа. Сравнительный анализ показателей миелограмм больных с центробластным и центроцитарным типом лимфомы не выявил между ними существенных различий. Данные анализа свидетельствуют о том, что при фолликулярной лимфоме угнетение гемопоэза: анемия и тромбоцитопения, могут выявляться у пациентов независимо от наличия поражения костного мозга, в равной степени при центробластном и центроцитарном типе опухолевого клона.

Изучение влияния клеток окружения на гемопоэз больных фолликулярной лимфомой проводилось в соответствии с данными литературы. Снижение числа Т-лимфоцитов и моноцитов периферической крови являются неблагоприятными прогностическими факторами при этой лимфоме.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что снижение числа Т-лимфоцитов и увеличение моноцитов в периферической крови не ассоциировались с типом опухолевых клеток и с частотой анемии и тромбоцитопении у пациентов.

Особый интерес в клиническом плане представляет раздел, посвященный сопоставлению характеристики варианта фолликулярной лимфомы в костном мозге по данным миелограммы, трепаната и по данным гистологического исследования лимфатических узлов. Автору удалось продемонстрировать различия в составе опухолевого клона, расположенного в костном мозге и в лимфатическом узле. В отдельных случаях в костном мозге была установлена опухолевая инвазия центробластами, а экстрамедуллярно определялся центроцитарный клон. Автор связывает этот феномен с различными методическими условиями диагностической процедуры. Из представленного наблюдения обоснованно следует вывод об обязательном выполнении наряду с биопсией лимфатического узла проводить пункцию и трепанобиопсию костного мозга при обследовании пациентов с фолликулярной лимфомой.

Заслуживающим внимание является опыт автора по применению новейшего метода микроскопии с использованием зональной камеры и компьютера для изучения лимфоидных клеток. Исследование заключалось в анализе структурных особенностей хроматина ядер лимфоидных клеток при фолликулярной лимфоме в сравнении с нормальными лимфоцитами. Вероятно, дальнейшие разработки в этой области дадут возможность повысить объективность оценки опухолевых клеток и уточнить диагностические критерии.

Глава 4. Заключение. В этой главе автор подводит итоги анализа гемопоэза больных фолликулярной лимфомой при отсутствии или наличии поражения костного мозга. Автор прослеживает коррелятивные зависимости данных кроветворения со стадией процесса, с типом опухолевых клеток, с показателями микроокружения. Отдельно анализируются вопросы

диагностических трудностей при лимфопролиферативных заболеваниях. Предметом обсуждения являются другие лимфопролиферативные заболевания: хронический лимфолейкоз, агрессивные лимфомы. Для уточнения диагностики фолликулярной лимфомы в работе предлагается использовать алгоритм комплексного исследования опухолевых лимфоидных клеток с использованием морфологического, иммунофенотипического, цитохимического методов.

Обсуждение полученных результатов проведено логично, автором сделаны интересные выводы полезные для использования в диагностике поражения костного мозга, определения опухолевой нагрузки и оценке эффективности терапии при фолликулярной лимфоме в реальной клинической практике.

Заключение

Таким образом, диссертационное исследование Моженковой Анны Васильевны на тему «Иммуноморфологические особенности опухолевого клона и клеток микроокружения в костном мозге при фолликулярной лимфоме», является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой сформулировано и обосновано положения, квалифицируемые, как важный вклад в диагностику поражения костного мозга при фолликулярной лимфоме. Диссертационная работа, выполненная под руководством доктора медицинских наук профессора Френкель Марины Абрамовны, содержит новое решение актуальной научной задачи - комплексной оценки гемопоэза больных фолликулярной лимфомой для уточнения патогенеза опухолевого процесса и решения диагностических проблем.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов, полноте изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем, работа

полностью соответствует критериям пункта 9 «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 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и ее автор заслуживает искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Профессор кафедры гематологии и клеточной терапии
Института усовершенствования врачей
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И.Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации.

 Демина Е.А.

105203, г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, д.70

Телефон +7 (499) 464-04-54.

E-mail: institutuvr@yandex.ru.

28.06.19

Подпись Деминой Елены Андреевны заверяю

Ученый секретарь диссертационного совета

Института усовершенствования врачей

ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

доктор медицинских наук, профессор





С.А. Матвеев