

## ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора биологических наук, руководителя научно-исследовательского Центра клеточной и молекулярной патологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», **Мартынкевич Ирины Степановны** на диссертацию **Дорофеевой Алены Игоревны** «Стромальные предшественники из костного мозга при апластической анемии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

### Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Дорофеевой Алены Игоревны посвящена актуальной проблеме современной гематологии – определению свойств стромальных клеток кроветворного микроокружения при апластической анемии разной степени тяжести. Известно, что развитие аплазии при апластической анемии происходит в результате снижения количества и нарушения функций стволовой кроветворной клетки. Показана ведущая роль аутоиммунного механизма в этом процессе, однако детали патогенеза неизвестны. Процессы пролиферации и дифференцировки стволовой кроветворной клетки регулируются ее микроокружением. Хотя в литературе описаны работы, посвященные изучению свойств мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) из костного мозга больных, до сих пор неясно, способны ли стромальные предшественники образовывать полноценную функциональную нишу при апластической анемии.

Известно также, что функционирование стромальных предшественников в костном мозге происходит при тесном взаимодействии с кроветворными клетками. Однако влияние аплазии костного мозга на свойства стромальных предшественников в настоящее время не изучено. Апластическая анемия представляет собой удобную и адекватную модель для подобного рода исследований. Интенсивность гемопоэза у больных апластической анемией

различается в зависимости от тяжести заболевания. При этом выделяют нетяжелую, тяжелую и сверхтяжелую форму апластической анемии. Изучение свойств стромальных предшественников из костного мозга больных при разных формах заболевания позволит определить влияние аплазии разной степени тяжести на функционирование стромальных предшественников кроветворного микроокружения.

Все вышесказанное определяет несомненную актуальность темы диссертационного исследования.

### **Научная новизна**

Уникальность данной работы заключается в том, что впервые анализ свойств стромальных предшественников при апластической анемии был выполнен параллельно для двух групп больных, различающихся по степени тяжести: одна из них включала больных с нетяжелой формой, а другая – с тяжелой и сверхтяжелой формой заболевания. Известно, что частота ответа на иммуносупрессивную терапию при апластической анемии различается в зависимости от формы заболевания, однако в настоящий момент неясно, чем обусловлены данные различия. Впервые выполненный анализ ММСК и колониеобразующих единиц фибробластов (КОЕф) из костного мозга больных с нетяжелой, тяжелой и сверхтяжелой апластической анемией выявил различия между формами заболевания на уровне стромальных предшественников кроветворного микроокружения. Результаты исследования позволили впервые автору сделать предположение о различиях в механизмах развития аплазии при разных формах заболевания.

### **Ценность для науки и практики**

Диссертационная работа обладает несомненной научной ценностью. В исследовании получены данные, которые указывают на важную роль более поздних стромальных предшественников (КОЕф) в регуляции гемопоэза и иммунного ответа у здоровых доноров. Эти результаты расширяют представления

фундаментальной науки о свойствах мезенхимных клеток разной степени зрелости. Продолжение работы в данном направлении, возможно, позволит разработать более эффективные способы практического применения стромальных клеток в таких областях, как иммунотерапия, клеточная терапия, регенеративная медицина и др.

Показано, что независимо от формы заболевания стромальные клетки больных апластической анемией способны образовывать полноценные кроветворные ниши. Однако выявлены изменения экспрессии некоторых генов в этих клетках, что указывает на нарушение их функций. Известно, что полный ответ на иммуносупрессивную терапию удается получить не у всех больных. Возможно, обнаруженные нарушения препятствуют достижению полного ответа на лечение у пациентов с частичным ответом. Дальнейшие исследования позволят проверить эту гипотезу и, возможно, приведут к разработке новых подходов, направленных на компенсацию изменений стромального микроокружения и достижению более быстрого и полного ответа на стандартную терапию.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Результаты исследования получены на выборках больных и доноров, позволяющих выявить достоверные различия между группами. В работе применены и детально описаны разнообразные методические подходы, сочетающие современные методы клеточной и молекулярной биологии, выполнен весь объем статистической обработки данных, проведено сопоставление собственных результатов с данными мировой литературы. В связи с этим обоснованность сформулированных научных положений и выводов не вызывает сомнений.

### **Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати**

Основные результаты исследования опубликованы в 13 печатных работах, в том числе в 2 статьях в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной

комиссией Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований и индексируемых в реферативных базах Scopus и Web of Science.

### **Структура и оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа изложена на 141 странице машинописного текста и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений и условных обозначений», «Список литературы», «Приложения А-Г». Работа включает 18 рисунков и 8 таблиц.

Во введении отражена актуальность, новизна и практическая значимость исследования, сформулированы цели и задачи.

Обзор литературы написан с использованием большого количества источников как отечественных, так и зарубежных авторов, содержит исчерпывающую информацию по теме диссертации. Особое внимание в данном разделе уделено устройству кроветворного микроокружения и роли стромальных предшественников в регуляции гемопоэза, а также современным представлениям о патогенетических механизмах развития аплазии при апластической анемии.

В главе «Материалы и методы» приведена общая характеристика больных и доноров, а также критерии включения, детально описаны использованные в работе методические подходы и методы статистической обработки данных.

В главе «Результаты и обсуждение» представлены собственные данные, проведено их сравнение с результатами мировых исследований. Сначала автор описывает результаты исследования функциональных свойств стромальных предшественников из костного мозга больных апластической анемией, включающие анализ концентрации КОЕф в костном мозге, пролиферативного и дифференцировочного потенциала ММСК, а также их способности к поддержанию ранних и поздних кроветворных предшественников. Прежде чем перейти к изучению экспрессии генов в стромальных предшественниках больных, автор проводит сравнение уровня транскрипции генов в ММСК и КОЕф здоровых доноров и показывает различия между данными типами клеток на молекулярном

уровне. Далее описывает различия уровня экспрессии генов в стромальных предшественниках больных апластической анемией разной степени тяжести по сравнению с донорами. Всего в работе был проведен анализ транскрипции 27 генов. Все они были разбиты на 5 функциональных групп: гены, ассоциированные с пролиферацией, дифференцировкой, иммуномодуляцией, регуляцией кроветворения, а также маркеры наиболее ранних мезенхимных клеток. В конце главы проведено обобщение полученных результатов по экспрессии генов в ММСК и КОЕф при апластической анемии разной степени тяжести, выявлены общие и специфические изменения, характерные для каждой группы больных.

В заключении и выводах отражены основные положения диссертационной работы. Выводы соответствуют целям и задачам исследования, логичны и обоснованы.

Список литературы включает 253 источника, из них 239 зарубежных и 14 отечественных.

Автореферат полностью отражает содержание диссертационного исследования.

### **Недостатки по содержанию и оформлению работы**

Работа заслуживает положительной оценки. Существенных замечаний по содержанию и оформлению работы нет.

### **Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным**

#### **Положением о порядке присуждения ученых степеней**

Диссертационная работа Дорофеевой Алены Игоревны «Стромальные предшественники из костного мозга при апластической анемии», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченным квалификационным трудом, в котором охарактеризованы свойства стромальных предшественников из костного мозга больных апластической анемии в зависимости от тяжести заболевания, что имеет важное значение для гематологии.

По своей актуальности, научной новизне и значимости представленная диссертационная работа Дорофеевой Алены Игоревны полностью соответствует пунктам 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями и дополнениями в редакции от 25 января 2024 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.28. – Гематология и переливание крови.

**Официальный оппонент:**

руководитель научно-исследовательского Центра клеточной и молекулярной патологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»,

доктор биологических наук

Мартынкевич Ирина Степановна

«20» февраля 2024 г.

**Подпись д.б.н. И.С. Мартынкевич заверяю**

Ученый секретарь ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России,

доктор медицинских наук

Павлова Ирина Евгеньевна



**Сведения об организации:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»

191024, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. 2-Советская, д.16,

тел: +7 (812) 309-79-81, e-mail: [bloodscience@mail.ru](mailto:bloodscience@mail.ru), <https://www.bloodscience.ru/>