

ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора медицинских наук, заведующего отделением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток №2, ведущего научного сотрудника отдела оптимизации лечения и профилактики осложнений трансплантации гемопоэтических стволовых клеток федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России Балашова Дмитрия Николаевича на диссертационную работу Дубняк Дарьи Станиславовны на тему: «Роль химеризма в субпопуляциях Т-хелперов у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных стволовых кроветворных клеток», представленную на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 3.1.28. – Гематология и переливание крови.

Актуальность темы диссертационного исследования

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) сегодня используется для терапии целого ряда онкологических, гематологических и некоторых врожденных заболеваний. Показанием для ТГСК в большинстве случаев является отсутствие других равноэффективных методов терапии. Использование ТГСК только при отсутствии альтернатив обусловлено потенциальными рисками развития целого ряда осложнений ТГСК, которые могут стать причиной инвалидизирующих и жизнеугрожающих осложнений, к числу которых относится и реакция «трансплантат против хозяина».

Несколько десятилетий тому назад была открыта популяция Т-регуляторных клеток, которые дифференцируются из наивных Т-лимфоцитов в тимусе. Существенная роль Т-регуляторных клеток в подавлении некоторых иммунных реакции в настоящее время хорошо известна. Соответственно, именно эта популяция клеток играет важную роль в развитии иммунной толерантности у пациентов после аллогенной ТГСК.

В настоящее время одним из методов оценки функции трансплантата является изучение химеризма как в общей нуклеарной фракции, так и, при необходимости, в отдельных клеточных субпопуляциях.

Диссертационная работа Дубняк Дарьи Станиславовны посвящена изучению роли целого ряда факторов, потенциально влияющих на химеризм в различных Т-клеточных

популяциях, в том числе в компартменте Т-регуляторных клеток, а также на формирование иммунной толерантности после аллогенной ТГСК.

Научная новизна основных положений, выводов и практических рекомендаций

Изучение химеризма в популяции Т-регуляторных клеток и в CD4+CD25- Т-лимфоцитах, а также анализ ассоциированных факторов и влияния полученных данных на риски развития РТПХ является инновационной частью проделанной работы, заслуживающей серьезного внимания.

В работе сделаны выводы о влиянии различных режимов профилактики РТПХ на химеризм в Т-клеточных линиях на различных сроках после ТГСК и его влияние на исходы трансплантации.

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

Научно-практическая ценность данной работы заключается в том, что позволяет спрогнозировать развитие острой реакции «трансплантат против хозяина», исследуя химеризм в периферической крови – популяции Т-регуляторных клеток. Впервые показано, что в случае определения среди Т-регуляторной популяции менее 82,5% клеток с донорским химеризмом, значительно повышается вероятность развития поздней острой «реакции трансплантат против хозяина».

В рамках применения иммуносупрессивной терапии автор обосновывает преимущества посттрансплантационного циклофосфамида в сравнении с лошадиным антиtimoцитарным глобулином. Впервые доказано, что при применении лошадиного антиtimoцитарного глобулина у пациентов с острыми лейкозами детектируется смешанное кроветворение в популяции Т-регуляторных, Т-конвенциональных клеток, в отличие от химеризма в общей популяции клеток костного мозга.

Изложение основных результатов диссертационной работы в научной печати

По теме диссертации опубликовано 15 работ, из них 2 статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации. Одна статья опубликована в иностранном журнале, 12 тезисных

сообщений. Основные результаты диссертационной работы были представлены в виде докладов на профильных научных конференциях.

Оценка содержания диссертационной работы

Диссертационная работа изложена на 131 странице машинописного текста. Диссертация написана в традиционном стиле и включает введение, обзор литературы по теме научной работы, главы материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений, список литературы. Иллюстративный материал включает 24 рисунка и 9 таблиц. Библиографический список включает 194 литературных источников: 6 отечественных и 188 зарубежных источников.

Во введении автор убедительно доказывает актуальность выбранной темы, обосновывает цель и задачи диссертационной работы, характеризует новизну и практическую значимость работы.

Первая глава посвящена обзору литературных данных по теме исследования. Обзор литературы содержит историческую справку, далее автор представляет информацию о биологии Т-регуляторных клеток. Детально проанализированы режимы профилактики реакции «трансплантат против хозяина». Автором подробно изложено участие Т-регуляторных клеток в развитии острой реакции «трансплантат против хозяина». Описано значение химеризма после трансплантации аллогенных гемопоэтических клеток, даны сведения о методах исследования химеризма. Анализ литературных данных, выполненный диссертантом, подтверждает актуальность данного исследования.

В главе «Материалы и методы» охарактеризованы группы пациентов, включенные в диссертационную работу. Изложены программы предтрансплантационного кондиционирования, а также режимы профилактики острой реакции «трансплантат против хозяина». Описаны методы магнитной сепарации клеток с дальнейшим выделением необходимых клеточных популяций и постановки полимеразной цепной реакции. Представлены методы статистического анализа данных.

Глава 3 посвящена описанию собственных результатов исследования. Работа носила как проспективный, так и ретроспективный характер. Проспективно оценено влияние различных факторов, таких как вариант лейкоза, статус заболевания, совместимость донора и реципиента, интенсивность кондиционирования, источник трансплантата, схемы режимов иммуносупрессивной профилактики на химеризм в костном мозге, химеризм во фракциях Т-регуляторных и Т-конвенциональных клеток периферической крови. Чрезвычайно важным является анализ оценки химеризма в Т-регуляторных клетках и его влияние на вероятность

развития тяжелой острой РТПХ. В частности, появление реципиентских Т-регуляторных клеток увеличивает риски развития РТПХ, что по мнению автора может быть связано с неспособностью реципиентского пула Т-рег клеток к иммуносупрессивному ответу, что может иметь ряд объяснений, в частности, функциональные особенности (неполноценность) клеток, попавших пациенту с трансплантатом и не прошедшим дифференцировку в тимусе реципиента.

Автор доказывает, что главным фактором, влияющим на химеризм, является режим иммуносупрессивной профилактики. При дальнейшем анализе диссертант проводит черту, что применение лошадиного антитимоцитарного глобулина создает предпосылки к развитию острой реакции «трансплантат против хозяина». С целью проверки полученных результатов, автор дополнительно ретроспективно проводит оценку вероятности развития острой реакции «трансплантат против хозяина» в группе пациентов с острыми лейкозами. В случае включения в схему иммуносупрессивной терапии посттрансплантационного циклофосфида вероятность развития острой реакции «трансплантат против хозяина» достоверно ниже.

В разделе посвященном обсуждению полученных результатов автор проводит сопоставление полученных результатов с данными, имеющимися в отечественной и зарубежной литературе.

Выводы соответствуют цели и задачам диссертационной работы, отражают ключевые результаты проведенного анализа. Последний вывод о возможном вкладе проблеме РТПХ не только химеризма, но и количественных характеристик исследуемых Т-клеточных популяций на разных сроках является важным с точки зрения понимания необходимости дальнейшей исследовательской работы в данном направлении.

Обоснованность положений диссертации

Достоверность и обоснованность выводов и основных положений диссертационной работы Дубняк Дарьи Станиславовны не вызывает сомнений, так как они основаны на результатах, полученных на достаточном объеме материала, при использовании современной методологической базы с применением статистической обработки полученных результатов.

Оценка содержания, полученных результатов и оформления работы

Нельзя не отметить высокую научно-практическую ценность диссертационной работы, которая заслуживает исключительно положительной оценки.

Существенных замечаний по методологическим подходам, обоснованности выводов, научной новизне и практической значимости нет.

Требуется ответ на единственный вопрос. В связи с тем, что реципиентский химеризм в субпопуляции Т-регуляторных клеток увеличивает вероятность развития острой РТПХ, не до конца понятной остается патогенетическая составляющая данного процесса. Предположение о невозможности Т-рег с реципиентским генотипом осуществлять полноценно свою функцию работает только в случае низкого абсолютного количества донорских Т-регуляторных клеток. Тем не менее, интересно мнение автора, является ли иммуносупрессивная терапия единственным инструментом для снижения количества Т-регуляторных клеток донорского происхождения или механизмы *in vivo* экспансии (и/или активности) донорских Т-регуляторных клеток могут быть нарушены Т-регуляторными клетками, имеющими реципиентский генотип (при сильно смешанном химеризме)?

Замечания и вопросы, возникшие в процессе ознакомления с диссертационной работой, в целом носят дискуссионный характер, не снижают качество исследования и не влияют на основные теоретические и практические результаты диссертации.

Заключение


Диссертационная работа Дубняк Дарьи Станиславовны на тему: «Роль химеризма в субпопуляциях Т-хелперов у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных стволовых кроветворных клеток» выполненная под руководством доктора биологических наук Сударикова Андрея Борисовича, кандидата медицинских наук Дрокова Михаила Юрьевича, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решается актуальная для гематологии научно-практическая задача: прогнозирование развития острой реакции «трансплантат против хозяина», а также предотвращение развития этого осложнения у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Диссертационная работа является самостоятельным научным трудом, выполненным на собственном клиническом материале с применением современных методов исследований. Полученные результаты имеют несомненный практический интерес и могут быть рекомендованы в клиническую практику.

Таким образом, диссертационная работа Дубняк Дарьи Станиславовны по своей актуальности, уровню проведенных исследований, научной и практической ценности полученных результатов полностью соответствует пунктам 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 «О порядке присуждения ученых степеней (с изменениями и

дополнениями) в редакции от 18 марта 2023 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. (14.01.21) – Гематология и переливание крови.

Официальный оппонент:

Заведующий отделением ТГСК №2, ведущий научный сотрудник отдела оптимизации лечения и профилактики осложнений трансплантации гемопоэтических стволовых клеток Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России (адрес места работы: 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1., телефон: +7 495 6647091; e-mail: info@fnkc.ru, сайт: <https://fnkc.ru/>

 Балашов Дмитрий Николаевич

Подпись Д.Н.Балашова заверяю.

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор

 Спиридонова Елена Александровна

19 августа 2023 г.

