

ОТЗЫВ официального оппонента

Повещенко О.В. о научно-практической значимости диссертационной работы Аристовой Татьяны Андреевны «Супрессорные клетки миелоидного происхождения на этапах трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7 – «Иммунология»

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Т.А. Аристовой посвящена характеристике периферических супрессорных клеток миелоидного происхождения (МС) у больных множественной миеломой (ММ) и анализу их патогенетической и прогностической значимости. ММ представляет В-клеточное лимфопролиферативное заболевание, которое занимает весомую долю в структуре опухолей кроветворной и лимфоидной тканей. Высокая частота рецидивирования после проведения высокодозной химиотерапии с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) и сложности в прогнозировании течения заболевания и ответа на терапию существенно затрудняют лечение данной патологии. Важная роль в патогенезе заболевания отводится подавлению иммунных механизмов противопухолевого ответа, и, соответственно, клеткам с супрессорной активностью. Среди таковых большой интерес в последние годы вызывают МС, обладающие способностью подавлять функции иммунных клеток врожденного и приобретенного иммунитета и поддерживать рост опухолевых клеток. Негативная роль МС продемонстрирована при многих солидных опухолях. Тем не менее, значение этих клеток, в том числе циркулирующих МС, включая их различные субпопуляции, при ММ остается недостаточно изученной. МС костномозгового микроокружения участвуют в формировании ниш для плазматических клеток, что может способствовать «уходу» опухолевых клеток от иммунного надзора и приводить к развитию резистентности к лекарственной терапии. Гранулоцитарные МС (Г-МС) судя по данным литературы поддерживают стволовые свойства миеломных клеток при ММ и стимулируют рост опухолевых клеток в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*. Тем не менее, сведения о содержании различных субпопуляций МС в периферической крови при ММ у человека малочисленны и порой противоречивы. Соответственно, патогенетическая и прогностическая значимость МС на различных этапах развития заболевания и терапии ММ, в частности, на этапах аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК), используемой в качестве консолидации ремиссии при множественной миеломе, остается неясной. Открытым остается вопрос о влиянии гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) на изменения в количестве и процентном содержании субпопуляций МС на этапе мобилизации гемопоэтических стволовых клеток.

Практически отсутствуют данные о связи между содержанием различных субпопуляций МС после ауто-ТГСК со сроками приживления трансплантата и длительностью безрецидивной выживаемости. С этой точки зрения актуальности исследований, посвященных изучению количественных и функциональных характеристик различных субпопуляций циркулирующих МС у больных ММ на этапах развития заболевания и в динамике проводимой терапии, не вызывает сомнений.

Соответствие темы диссертации научной специальности

Диссертация Т.А. Аристовой выполнена на базе лаборатории клеточной иммунотерапии и гематологического отделения с блоком ТКМ клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» и посвящена изучению содержания и супрессорного потенциала субпопуляций МС периферической крови у больных ММ. С этой целью автором проведено исследование относительного и абсолютного содержания трех субпопуляций МС и оценка их супрессорного потенциала на основе определения экспрессии ингибиторных молекул Arg1, PD-L1 и IDO у больных ММ в фазе ремиссии в зависимости от ключевых клинических параметров, а также на основных этапах ауто-ТГСК - мобилизации ГСК с введением Г-КСФ, перед началом кондиционирования, на этапе восстановления лейкоцитов и на сроках наблюдения +6 мес и +12 мес. Таким образом тема диссертации полностью соответствует научной специальности 3.2.7 – «Иммунология», согласно паспорту специальности: «медико-биологическая специальность, посвященная изучению иммунитета (система защиты организма от биологической агрессии) и его нарушений (аллергии, иммунодефицитов, аутоиммунных процессов), а также созданию методов диагностики, профилактики и лечения заболеваний, связанных с нарушениями в системе иммунитета.

Достоверность полученных результатов диссертационной работы и обоснованность научных положений и выводов

Диссертационная работа представляет завершенное исследование, выполненное на высоком научном и методическом уровне. Сформулированные автором цель и задачи выполнены в полном объеме. Достоверность полученных результатов подтверждается логично выстроенным алгоритмом работы, продуманным дизайном и достаточной выборкой исследования, использованием современных иммунологических методов и адекватных и корректных методов статистической обработки. Выносимые на защиту положения в полной мере подтверждены полученными результатами. Выводы основываются на полученном фактическом материале и отражают суть проведенных исследований.

Основные положения работы доложены и обсуждены на международных и российских научных форумах и представлены в 9 печатных работах, включая 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, в том числе одну статью в журнале, индексируемом в базе Web of Science (Q1). Апробация диссертации состоялась 21 декабря 2023 г на семинаре клинического отдела ФГБНУ НИИ фундаментальной и клинической иммунологии. Автореферат полно отражает содержание диссертации. В нем изложены актуальность, цель, задачи, основные положения, выносимые на защиту, научная новизна, научно-практическая значимость, наиболее важные результаты и выводы.

Научная новизна исследования

В работе впервые показано, что изменения в компартменте МС регистрируются уже у пациентов с впервые выявленной ММ, ослабевают после индукционной терапии в фазе ремиссии и вновь усиливаются на фоне прогрессии заболевания. Автором получены новые данные об изменении экспрессии ингибиторных молекул в субпопуляциях МС. В частности, показано снижение экспрессии Arg-1 в М-МС у пациентов в ремиссии и повышение содержания Arg-1+М-МС, PD-L1+М-МС и Arg-1+P-МС на фоне прогрессии заболевания, что свидетельствует об изменении супрессорного потенциала МС в зависимости от фазы заболевания. Выраженность этих изменений также

варьирует в зависимости от стадии заболевания, типа индукционной терапии и глубины достигнутого ответа. Введение Г-КСФ на этапе мобилизации гемопоэтических стволовых клеток приводит к увеличению всех субпопуляций циркулирующих МС. Впервые установлено, что ранняя реконституция на этапе выхода из лейкопении характеризуется транзиторной экспансией М-МС и Г-МС и усилением супрессорного потенциала М-МС. При этом выявлена сопряженность между содержанием МС с показателями восстановления кроветворения и выживаемости. Так, содержание М-МС в раннем посттрансплантационном периоде обратно коррелирует с продолжительностью лейкопении, а более высокое относительное содержания всех субпопуляций МС в этот период ассоциировано с более высокими показателями безрецидивной выживаемости.

Значимость результатов для науки и практики

Представленные в работе данные существенно расширяют имеющиеся представления о содержании МС и их супрессорном потенциале в различных фазах ММ, а также на этапах терапии, в том числе ауто-ТГСК. Полученные данные о содержании и супрессорном потенциале МС в посттрансплантационном периоде позволяют предположить участие МС в регуляции энграфтинга и гомеостатической пролиферации, что расширяет представления о механизмах контроля указанных процессов. Корреляционная связь между более высоким содержанием М-МС в раннем посттрансплантационном периоде и меньшей длительностью лейкопении, а также ассоциация между более высокими уровнями субпопуляций МС в эти сроки и увеличением длительности безрецидивной выживаемости свидетельствует о позитивной роли МС на этапе выхода из лейкопении. Важное практическое значение имеет выявленная сопряженность между содержанием МС и их супрессорным потенциалом с типом индукционной терапии и глубиной достигнутого ответа, что может являться основанием для коррекции индукционной терапии у разных групп пациентов и корректировки параметров отбора на ВДХТ с ауто-ТГСК. Обнаруженная повышенная экспрессия Arg-1 и PD-L1 в субпопуляциях М-МС и Р-МС в случае резистентности к индукционной терапии или возникновения рецидива свидетельствует о прогностической значимости указанных параметров в качестве биомаркеров неблагоприятного прогноза. Полученные достоверные данные о связи сниженного содержания Р-МС на этапе восстановления гемопоэза с меньшей безрецидивной выживаемостью, могут служить основанием для формирования новых подходов к поддерживающей терапии, используя этот фактор в качестве предиктора неблагоприятного прогноза после ауто-ТГСК.

Структура и общая характеристика работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», результатов собственных исследований, отраженных в пяти главах, обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Материал изложен на 111 страницах машинописного текста, включающего 17 таблиц и 7 рисунков.

Во введении автор обосновывает актуальность данного исследования, формулирует цель и задачи, а также положения, выносимые на защиту; отмечает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы и степень достоверности результатов.

В литературном обзоре проанализирован обширный материал, посвященный патогенезу, клиническому разнообразию и факторам прогноза при множественной миеломе, характеристике миелоидных супрессорных клеток и их роли при опухолевом росте в целом и при множественной миеломе в частности, изменениям миелоидных

супрессоров в процессе терапии множественной миеломы, в том числе при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

В главе «Материалы и методы» автор подробно описывает группы обследованных, клинические критерии включения и исключения, методы выполненных в работе иммунологических исследований, а также методы статистической обработки данных.

Глава 3 представляет результаты собственных исследований и включает 5 разделов, логически выстроенных в соответствии с поставленными задачами. Первые два раздела посвящены исследованию содержания МС и их супрессорного потенциала у больных множественной миеломой в ремиссии в зависимости от клинических факторов: стадии заболевания, режима индукционной терапии и глубины достигнутого ответа. Также, для более полной характеристики изменений МС автором исследованы изменения различных субпопуляций МС и их супрессорного потенциала в группах пациентов с впервые диагностированной миеломой, не получавших противоопухолевую терапию и с прогрессией заболевания вследствие рецидива или рефрактерности к терапии.

Разделы 3, 4 и 5 посвящены исследованию содержания МС и их супрессорного потенциала у пациентов с множественной миеломой на различных этапах ауто-ТГСК: мобилизации ГСК с введением Г-КСФ, перед началом кондиционирования, на этапе выхода из лейкопении и в течение года после ауто-ТГСК. Также проведена оценка связи их количества со сроками восстановления лейкоцитов и частотой возникновения ранних посттрансплантационных рецидивов.

В обсуждении автор подробно анализирует полученные результаты в сопоставлении с данными мировой литературы, что позволяет сформировать достаточно полное представление о проделанной работе.

В разделе заключение подводится краткий итог проделанной работы.

Выводы работы полностью соответствуют представленным результатам.

В целом диссертация производит благоприятное впечатление. Полученные данные характеризуются новизной. Работа выполнена на высоком методическом уровне, логично выстроена, написана хорошим литературным языком. Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации. Таким образом, представленная к защите диссертация является законченной работой, в которой решены все поставленные задачи.

Существенных замечаний, которые могли бы повлиять на научную ценность представленной работы, нет. Хотелось порекомендовать автору для наглядности представить дизайн исследования и гипотезу схематически в виде графического абстракта, основываясь на полученных бесспорно интересных результатах.

При ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Чем обусловлен выбор исследованных вами ингибиторных молекул в субпопуляциях МС? Как согласуется увеличение количества МС при ММ и снижение их функциональной активности?

2. Какого происхождения исследованная вами субпопуляция Р-МС ранних стадий дифференцировки?

3. Вы оценили иммунносупрессорный потенциал МС, исследовали ли вы влияние МС на иммунные клетки *in vitro*, есть ли такие данные в литературе?

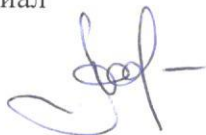
4. Обнаруженная вами ассоциация между содержанием М-МС и временем выхода из лейкопении ассоциируется с эффективностью восстановления гемопоэза. С чем связана позитивная роль М-МС?

Заключение

Диссертационная работа Т.А. Аристовой «Супрессорные клетки миелоидного происхождения на этапах трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. «Иммунология», является самостоятельным завершенным научно-квалификационным трудом, выполненным на высоком методическом уровне, и представляющим интерес для решения важной проблемы современной клинической иммунологии в области изучения иммунологических механизмов патогенеза гемобластозов.

По актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Т.А. Аристовой полностью соответствует критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 года, № 748 от 2 августа 2016 года, № 650 от 29 мая 2017 года, № 1024 от 28 августа 2017 года, № 1168 от 1 октября 2018 года «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. «Иммунология»

Официальный оппонент,
Заведующая лабораторией
клеточных технологий НИИКЭЛ филиал
ФИЦ ИЦиГ СО РАН
доктор медицинских наук



Повещенко Ольга Владимировна

630117, Россия, г.Новосибирск,
ул. Тимакова, 2, тел. (383) 333-64-09,
<http://nikelsoramn.ru/>
E-mail: lymphology@niikel.ru
Доктор медицинских наук по специальности
1.5.22 – Клеточная биология
(медицинские науки)

Дата 06 мая 2024г.

Подпись д.м.н. Повещенко О.В. заверяю

Ученый секретарь
НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, к.б.н.



Соловьева Анастасия Олеговна