

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Скворцовой Наталии Валерьевны на диссертацию Аристовой Татьяны Андреевны на тему «Супрессорные клетки миелоидного происхождения на этапах трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7 – «Иммунология»

Актуальность темы исследования

В исследованиях последнего десятилетия всё больше места уделяется изучению роли супрессорных клеток миелоидного происхождения или миелоидных супрессоров (МС) при множественной миеломе. Известно, что МС костномозгового микроокружения играют важную роль в патогенезе ММ, в том числе участвует в формировании ниш для плазматических клеток, что может способствовать «уходу» опухолевых клеток от иммунного надзора и приводить к развитию химиорезистентности опухоли. Показано, что Г-МС поддерживают стволовые свойства опухолевых клеток ММ и способствуют росту опухоли в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*. Тем не менее, данные о содержании различных субпопуляций МС в периферической крови при ММ у человека малочисленны и противоречивы, так же, как и не до конца ясна патогенетическая и прогностическая значимость МС на различных этапах лечения ММ. В литературе имеются единичные сообщения, что высокое количество М-МС до проведения ауто-ТГСК ассоциируется с меньшим временем до развития рецидива [Lee S.-E., 2019]. Однако роль МС на посттрансплантационных этапах остаётся практически неизученной. Между тем, МС могут участвовать в регуляции приживления костного мозга и восстановления Т-клеток, которое на этапе выхода из глубокой лимфопении осуществляется за счёт гомеостатической пролиферации Т-клеток памяти, а в более поздние сроки – за счёт вновь образуемых наивных Т-клеток. Интерес к изучению роли МС на этапах терапии при ММ связан также с тем, что сама патология и проводимая терапия, в том числе используемый для мобилизации ГСК Г-КСФ, могут существенно влиять на МС, меняя их количество и регуляторные свойства. Однако данные о количественных изменениях МС и особенностях экспрессии ингибиторных молекул на различных этапах ауто-ТГСК, а также их прогностической значимости остаются малоизученными. В этой связи диссертационная работа Аристовой Т.А., посвященная изучению количественного состава и супрессорного потенциала субпопуляций миелоидных супрессорных клеток периферической крови у больных ММ в динамике высокодозной химиотерапии и трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток является безусловно актуальной.

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

На защиту соискателем вынесено 2 положения, которые четко и понятно суммируют основные итоги работы, полученные, исходя из цели и задач исследования.

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ) и соответствует специальности 3.2.7 – «Иммунология».

Диссертант квалифицированно выявляет и формулирует проблему, определяет цель и задачи исследования. Анализ диссертационной работы позволяет сделать заключение об обоснованности выносимых на защиту научных положений, которые соответствуют полученным результатам, выводам и практическим рекомендациям. Выводы основываются на фактическом материале и отражают суть проведенных исследований. Основные результаты работы доложены и обсуждены на российских и международных форумах и представлены в 9 печатных работах, включая 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Объем выборки в рецензируемой диссертационной работе достаточен для обоснования выводов (111 пациентов), примененные автором методы исследования позволяют получить результаты, на основании которых сформулированы резюмирующие разделы диссертации.

Научные данные обработаны с применением необходимых методов статистического анализа (U критерий Манна-Уитни, линейный регрессионный анализ и многофакторный дисперсионный анализ, пропорциональная регрессионная модель Кокса) и корректно проанализированы. Основные научные положения, выводы и практические рекомендации вытекают из результатов исследования и отражают поставленные задачи, что подтверждает достоверность включенных в диссертацию материалов. Теоретический раздел диссертации построен на проверяемых данных, не противоречит опубликованным материалам в ведущих научных изданиях, отражающих изучаемую проблематику.

Главные итоги диссертации опубликованы в 9 научных работ, включая 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертационных работ.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в анализе литературных данных, планировании диссертационной работы, обследовании, лечении пациентов и динамическом наблюдении за ними, составлении базы данных,

их статистической обработке, анализе и обобщении полученных лабораторных и клинических результатов.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе автором впервые детально охарактеризовано содержание всех трех субпопуляций миелоидных супрессоров (МС) у пациентов с множественной миеломой (ММ) в совокупности с оценкой экспрессии молекул, опосредующих супрессорную активность этих клеток. При этом тщательный клинико-иммунологический анализ, основанный на сопоставлении количественных и функциональных параметров МС с клиническими параметрами на отдельных этапах терапии позволил получить ряд новых данных. Так, установлено, что изменения в содержании МС у пациентов в фазе ремиссии затрагивают все три субпопуляции МС (снижение МС ранних стадий дифференцировки (Р-МС) и повышение гранулоцитарных (Г-МС) и моноцитарных МС (М-МС)). Изменения МС регистрируются уже при впервые выявленной ММ, ослабевают после индукционной противоопухолевой терапии и вновь усиливаются при прогрессии. Показано, что содержание циркулирующих МС у больных в фазе ремиссии сопряжено с рядом факторов (стадией ММ, режимом индукционной терапии и глубиной ответа на терапию), среди которых наиболее сильным фактором, влияющим на уровень ранних и моноцитарных, является стадия заболевания. Также продемонстрировано, что в сравнении с впервые выявленной ММ прогрессия заболевания характеризуется более выраженным снижением Р-МС и возрастанием Г-МС в отсутствие достоверного увеличения М-МС. Новые данные получены об изменениях в экспрессии циркулирующими МС ингибиторных молекул, в частности, снижении экспрессии Arg-1 в субпопуляции М-МС, что сопряжено с III стадией ММ и терапией леналидомидом. В последнем случае пациенты также отличаются меньшим содержанием PD-LI⁺ клеток в субпопуляции М-МС. Режим терапии является доминирующим фактором, влияющим на экспрессию PD-LI и Arg-1 в субпопуляции М-МС. При этом прогрессия ассоциирована с возрастанием экспрессии Arg-1 (в М-МС и Р-МС) и PD-L1 (в М-МС). Автором впервые показано, что на этапе мобилизации ГСК, наряду с увеличением доли всех субпопуляций периферических МС, отмечается возрастание экспрессии Arg-1⁺ в субпопуляции М-МС и экспансия Г-МС и М-МС, экспрессирующих Arg-1 и PD-LI молекулы. Также впервые показано, что транзитное возрастание М-МС и Г-МС на этапе ранней реконституции сопровождается усилением экспрессии Arg-1 в М-МС и Г-МС и PD-LI⁻ в М-МС, а снижение указанных субпопуляций к 6-12 мес. - уменьшением экспрессии PD-L1 в М-МС и ослаблением экспрессии Arg-1. При этом впервые выявлена сопряженность между содержанием МС и показателями восстановления кроветворения и выживаемости. В целом важным и новым итогом работы Аристовой Т.А.,

представляющим ценность для практического здравоохранения, является выявленное пороговое значение содержания Р-МС ($\leq 0,50\%$), которое является фактором достоверно ассоциированным с уменьшением сроков безрецидивной выживаемости больных ММ (наряду с III-ей стадией ММ и отсутствием полного ответа на момент ауто-ТГСК) и позволяет выделить группу пациентов с неблагоприятным ответом на терапию, высоким риском прогрессирования заболевания, что будет способствовать персонализации лечения.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Проведенное Аристовой Т.А. исследование имеет значимую научную и практическую ценность. Научная значимость исследования заключается в расширении представлений об особенностях изменений в компартменте МС на различных этапах течения ММ (впервые выявленная ММ, ремиссия, прогрессия) и клинических факторах, влияющих на содержание МС у пациентов в фазе ремиссии. Полученные результаты углубляют представление о супрессорном потенциале МС и сопряженности отдельных ингибиторных молекул с прогрессией заболевания. Кроме того, выявленная транзиторная экспансия М-МС и Г-МС на этапе выхода из лейкопении свидетельствует в пользу участия указанных субпопуляций в регуляции приживления ГСК и ранней реконституции иммунной системы. При этом прямая сопряженность М-МС с более быстрым восстановлением лейкоцитов и более длительная безрецидивная выживаемость у пациентов с большим содержанием МС свидетельствует о протективной роли этих клеток на этапе выхода из лейкопении. Значимость работы в практическом аспекте заключается в том, что автором обоснована целесообразность исследования прогностической значимости супрессорного потенциала МС у больных ММ, получающих индукционную противоопухолевую терапию. Также автором продемонстрировано, что относительное содержание Р-МС $< 0,50\%$ на этапе выхода из лейкопении является новым независимым и достоверным фактором, ассоциированным с меньшей безрецидивной выживаемостью пациентов с ММ. Материалы работы широко представлены в форме докладов на международных, межрегиональных, городских научно-практических конференциях.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

На основании полученных в работе данных о прогностической значимости МС в отношении достижения ответа на индукционную терапию первой линии, показателей безрецидивной выживаемости скорости восстановления лейкоцитов после этапа ауто-ТГСК, автор предлагает исследовать МС всем пациентам - кандидатам на ауто-ТГСК до проведения кондиционирования высокими дозами цитостатиков и на этапе восстановления лейкоцитов.

Пациентам с ММ у которых относительное содержание Р-МС $\leq 0,50\%$, диссертант предлагает интенсификацию посттрансплантационной поддерживающей терапии с более частым контролем ответа (не реже 1 раза в 2 мес.) и обязательным изменением программы лечения при минимальных признаках прогрессии. Также для этих пациентов целесообразно проведение тандемной ауто-ТГСК.

Результаты исследования могут быть использованы как лечебно-профилактическими подразделениями соответствующего профиля, так и медицинскими образовательными учреждениями для включения в учебно-методический процесс при подготовке врачей – гематологов, онкологов и терапевтов.

Соответствие содержания диссертации паспорту специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 3.2.7 – «Иммунология», а именно: пункту 2 «Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии», пункту 3 «Изучение молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, противопаразитарной иммунной защиты».

Оценка содержания диссертации

Диссертация Аристовой Т.А. построена классическим образом, цель и задачи сформулированы понятно и отражают основную идею диссертационной работы. Диссертация изложена на 111 страницах печатного текста, проиллюстрирована 17 таблицами и 6 рисунками и состоит из введения, обзора литературы, главы «материал и методы», «результаты собственных исследований», «обсуждения», «заклучения», «выводов» и списка процитированной литературы. Список литературы содержит ссылки на 138 литературных источников, практически полностью состоит из зарубежных статей. Цель работы сформулирована корректно, поставленные задачи соответствуют цели и изложены в 5 пунктах.

Введение содержит: актуальность, научную новизну, теоретическую и практическую значимость и 2 основных положения, выносимые на защиту. Научная новизна и практическая значимость диссертационного исследования не вызывают сомнений.

Обзор литературы состоит из 6 разделов, включает современные данные о клиническом разнообразии ММ и роли иммунных факторов в патогенезе заболевания; представление о МС, их роли при солидных опухолях и гемобластозах. Автор приводит имеющиеся в литературе данные об изменениях МС у больных ММ и обсуждает возможное влияние терапии на содержание и функциональный статус МС, завершая обзор минизаклчением. Судя по данным обзора, автор хорошо ориентируется в современной литературе.

Глава материал и методы включает описание исследуемой когорты пациентов и современных методов для оценки трех субпопуляций МС и

ингибиторных молекул в качестве их функциональных маркеров. Все методы изложены подробно с описанием использованных реактивов.

Глава «Результаты собственных исследований» состоит из 5 разделов, расположенных последовательно в соответствии с поставленными задачами. Поскольку условием включения пациентов в программу ВДХТ и ауто-ТГСК является достижение ремиссии, первый и второй разделы посвящены изучению содержания субпопуляций МС и экспрессии ингибиторных молекул у больных ММ, ответивших на индукционную противоопухолевую терапию. Однако изменения в содержании МС и экспрессии ингибиторных молекул анализируются не только в общей группе пациентов, но и в зависимости от стадии, режима терапии и ответа на индукционную противоопухолевую терапию. Кроме того, больные ММ в ремиссии сравниваются с группами пациентов с впервые выявленной миеломой и прогрессией. Поскольку процедуре ВДХТ и ауто-ТГСК предшествует мобилизация ГСК, в следующем разделе оценивается влияние Г-КСФ на количество и супрессорный потенциал МС. В разделе 4 представлены результаты исследования содержания МС и экспрессии ими функциональных маркеров в динамике ауто-ТГСК. Завершает главу раздел 5, в котором представлены результаты клинко-иммунологических сопоставлений, в частности, анализ сопряженности МС с длительностью лейкопении и выживаемости. В главе «Обсуждение результатов исследования» автор сравнивает полученные результаты с известными данными современной мировой литературы. **Заключение** представляет собой краткое изложение основных данных, полученных в работе. Выводы сформулированы четко и соответствуют поставленным задачам.

Достоинства работы

Несомненным достоинством работы является то, что автор одновременно анализирует все 3 субпопуляции МС и исследование количественных параметров МС сочетается с оценкой их функциональных маркёров - экспрессией ингибиторных молекул, опосредующих супрессорную активность МС. Хотя работа нацелена на изучение содержания и супрессорного потенциала субпопуляций МС в динамике ВДХТ ауто-ТГСК, в ходе ее выполнения автор попутно выясняет несколько интересных моментов: какие клинические факторы влияют на содержание различных субпопуляций МС и экспрессию ими ингибиторных молекул, как меняется характер изменений МС при прогрессии и после введения Г-КСФ на этапе мобилизации ГСК. Кроме того, клинко-иммунологический анализ исследуемых параметров МС в зависимости от эффективности восстановления кроветворения и длительности безрецидивного периода после ауто-ТГСК позволяет автору сделать предположение о протективной роли МС на этапе выхода из лейкопении. Это достаточно оригинальная гипотеза. Традиционно при опухолевом росте МС отводится негативная роль, которая может опосредоваться через иммунозависимые (подавление иммунного ответа) и независимые

(стимуляция роста опухолевых клеток, поддержание их стволовости, активация ангиогенеза) механизмы. Положительная роль МС в литературе обсуждается только при аллогенной ТГСК в контексте участия МС в подавлении РТПХ. Данные о возможной протективной роли МС при ауто-ТГСК получены впервые. Эти результаты, с одной стороны, требуют подтверждений, а с другой - открывают перспективу дальнейших исследований роли МС в регуляции энграфтинга и ранней иммунной реконституции, которая во многом обусловлена гомеостатической пролиферацией Т-клеток.

Выводы вытекают из поставленных задач и полностью им соответствуют, практические рекомендации достаточно аргументированы.

Диссертация написана доступным литературным языком, хорошо оформлена.

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации, оформлен в соответствии с требованиями п.25 Положения о присуждении ученых степеней.

Принципиальных замечаний к работе нет. В качестве дискуссии диссертанту предлагается ответить на ряд вопросов:

1. В главе «Материал и методы» отсутствует раздел, отражающий критерии включения и исключения проводимого исследования. В таком случае, существовали ли какие-то ограничения по включению пациентов в данной работе или Ваше исследование относится к варианту исследований в реальной клинической практике?
2. Могут ли полученные в вашей работе данные о влиянии противоопухолевых препаратов, используемых в индукционной терапии первой линии, на содержание МС способствовать усовершенствованию персонифицированной терапии больных ММ в дебюте заболевания? Можете ли вы дать рекомендации по дифференцированному назначению программ терапии I линии с учетом выявленных особенностей показателей МС у больных с впервые диагностированной ММ.
3. Чем, по вашему мнению, можно объяснить негативное прогностическое значение низкого содержания циркулирующих Р-МС ($\leq 0,50\%$) в отношении безрецидивной выживаемости больных ММ после этапа ауто-ТГСК?

Заключение

Диссертационная работа Аристовой Т.А. на тему «Супрессорные клетки миелоидного происхождения на этапах трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора, член-корреспондента РАН Черных Елены Рэмовны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7 – «Иммунология», является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная

задача: изучено содержание и супрессорный потенциал субпопуляции миелоидных супрессорных клеток периферической крови у больных множественной миеломой в динамике высокодозной химиотерапии и трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. Диссертация соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (ред. От 18.03.2023) «О порядке присуждения ученых степеней» (вместе с «Положением о присуждении ученых степеней»), а ее автор Аристова Татьяна Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7 – «Иммунология».

Официальный оппонент

Доцент кафедры терапии, гематологии
и трансфузиологии ФПК и ППВ
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук,
14.01.21 гематологи и переливание крови



Н.В. Скворцова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 630091, Сибирский федеральный округ, Новосибирская обл., г. Новосибирск, Красный проспект, 52, Тел. (383) 222-22-86, e-mail: nata_sk78@mail.ru.

