

## ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ДПО «Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации Луговской Светланы Алексеевны на диссертацию Поповой Натальи Николаевны «Реконституция субпопуляций Т-клеток памяти у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – Гематология и переливание крови.

### **Актуальность темы диссертации**

Острая реакция трансплантат против хозяина (РТПХ) является серьезным осложнением трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), которая значимо влияет на результаты выживаемости пациентов. За последние годы существенно увеличилось количество трансплантаций, которые выполняются от частично совместимых и гаплоидентичных доноров, что стало возможным благодаря модификации и использованию альтернативных протоколов профилактики РТПХ. Не менее важным является поиск предикторов развития РТПХ, которая в ряде случаев приводит к тяжелой инвалидизации пациентов. Известно, что в основе развития острой РТПХ лежит формирование аллореактивного иммунного ответа против клеток и тканей хозяина, который реализуется различными субпопуляциями донорских Т-лимфоцитов. Формирование аллоиммунного ответа является необходимым для развития реакции «трансплантат против опухоли» (РТПО), что определяет противоопухолевый контроль и является базисом биологического излечения больных гемобластозами. Актуальность темы диссертации обусловлена важностью изучения реконституции Т-

клеточного звена адаптивного иммунитета у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК, у которых были использованы различные режимы в схеме профилактики острой РТПХ.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Цель и задачи данного исследования сформированы на основании изучения большого объема научной литературы. Обоснованность и достоверность научных положений и выводов подтверждены достаточным объемом проведенного обследования у 65 пациентов с острыми лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, использованием современных методов исследования, умением анализировать и представлять данные, собранные в ходе проведения диссертационного исследования. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в работе, обоснованы, и напрямую следуют из тех результатов, которые были получены автором в ходе выполнения работы.

### **Новизна научных положений, выводов и рекомендаций**

В диссертационной работе Поповой Натальи Николаевны было изучено влияние различных режимов профилактики РТПХ на восстановление отдельных субпопуляций Т-клеток памяти периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК. Результаты работы демонстрируют механизмы воздействия основных режимов профилактики острой РТПХ на Т-клеточное звено иммунной системы на ранних сроках после алло-ТГСК и механизмы формирования иммунологической толерантности. В частности, показано, что популяция Т-клеток, экспрессирующих негативный регулятор иммунного ответа PD-1, у пациентов на ранних сроках после гаплоидентичной трансплантации с  $\alpha/\beta$ Т-клеточной деплецией препятствует развитию острой РТПХ. В свою очередь в диссертации также выделены факторы, ассоциированные с развитием острой РТПХ. Внедрение анализа CD8<sup>+</sup> Tnv+scm на +30 день может быть полезным в плане оценки рисков

развития острой РТПХ, что дает возможность для ранней модификации проводимой иммуносупрессивной терапии.

Достоверность полученных результатов обусловлена продуманным составлением дизайна исследования, чёткими и понятными критериями включения пациентов в исследование, однородностью групп сравнения. Достоинством работы является тот факт, что впервые проведено динамическое исследование различных субпопуляций Т-клеток памяти на ранних этапах после алло-ТГСК на фоне различных режимов профилактики РТПХ. Практические рекомендации являются актуальными для клинической работы трансплантационных центров.

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

По теме диссертации опубликовано 66 научных работ, из них 6 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации. Результаты диссертации представлены на международных и всероссийских конференциях.

Выводы диссертационной работы соответствуют полученным автором экспериментальным данным.

### **Структура, содержание и оценка диссертационной работы**

Диссертационная работа Поповой Натальи Николаевны построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов работы, их обсуждения, заключения, списка литературы и двух приложений. Текст диссертации изложен на 165 страницах, содержит 46 рисунков и 24 таблицы. Список литературы включает 277 отечественных и зарубежных источников. Литературные данные и результаты экспериментальных исследований структурированы, подразделы отражают фактический ход исследования и логически связаны друг с другом. Диссертация образует завершённую работу.

Во введении приведено обоснование темы диссертации, актуальность и практическая значимость исследования, сформулированы цель и задачи, определены 3 положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы содержит подробные сведения о факторах, влияющих на реконституцию иммунной системы после алло-ТГСК, на реконституцию Т-клеточного звена иммунитета, а также информацию о субпопуляциях Т-клеток памяти и их функциональных особенностях. В обзоре даны сведения о влиянии источника трансплантата и клеточного состава трансплантата на восстановление иммунной системы после алло-ТГСК, о режимах профилактики острой РТПХ. Анализ литературных данных, выполненный диссертантом, подтверждает актуальность текущего исследования.

В главе «Материалы и методы» содержится описание групп пациентов, включенных в исследование, программ претрансплантационного кондиционирования, режимов профилактики острой РТПХ. Автор описывает принцип метода многоцветной проточной цитометрии, на котором основана диссертационная работа и методику статистического анализа.

В главе «Результаты исследования» автор анализирует полученные результаты. Она разбита на подглавы и содержит подробное описание собственных результатов. Автор, используя многоцветную проточную цитометрию, провел многочисленные исследования различных субпопуляций Т-клеток памяти, как среди CD4<sup>+</sup>, так и среди CD8<sup>+</sup> Т-клеток периферической крови и костного мозга у пациентов с острыми лейкозами после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ.

В диссертации показано, что в ранние сроки после алло-ТГСК в костном мозге преобладали Т-клетки эффекторного пула, в то время как субпопуляционный состав костного мозга у здоровых доноров представлен преобладающим большинством наивных Т-клеток. Автор установил пороговое количественное значение CD8<sup>+</sup> Tnv<sup>+</sup>scm в периферической крови на +30 день после алло-ТГСК, что позволяет прогнозировать развитие острой РТПХ, что дает возможность при необходимости модифицировать

проводимую иммуносупрессивную терапию у каждого пациента. Реконституция отдельных субпопуляций Т-клеток памяти на ранних сроках после алло-ТГСК достоверно не влияло на развитие рецидива острого лейкоза.

В диссертационной работе изучена экспрессия негативного регулятора иммунного ответа PD-1 на Т-клетках памяти исследуемых субпопуляций периферической крови и костного мозга у пациентов после алло-ТГСК и различных режимов профилактики острой РТПХ. На основании полученных результатов автор делает вывод, что прогнозирование развития рецидива заболевания на основании оценки доли PD-1<sup>+</sup> Т-клеток на ранних сроках после алло-ТГСК не может быть достоверным, так как большее количество PD-1<sup>+</sup> Т-клеток у пациентов с острыми лейкозами в ранние сроки после алло-ТГСК представляется механизмом, препятствующим развитию острой РТПХ.

В 4 главе проводится обсуждение полученных результатов, где автор подчеркивает, что в основе иммунологической толерантности лежит деплеция именно наивных Т-клеток (T<sub>nv</sub>+scm), что протектирует развитие острой РТПХ. Автор делает вывод о более мощном иммуноаблативном действии режимов (АТГ+ПТ-ЦФ и TCRαβ-деплеции), являющихся необходимыми при выполнении алло-ТГСК от частично-совместимых или гаплоидентичных доноров.

В заключении сформулированы основные результаты полученных исследований. Суммируя все полученные данные, подчеркивается важность реконституции гетерогенной популяции Т-клеток памяти, как основной популяции адаптивного звена Т-клеточного иммунитета, на ранних сроках после алло-ТГСК. Анализ роли отдельных субпопуляций Т-клеток памяти дает возможность патогенетически обосновать выбор эффективной профилактики острой РТПХ и в дальнейшем своевременно модифицировать иммуносупрессивную терапию.

Заключение работы полностью соответствует содержанию диссертации. Диссертационная работа заканчивается 6 выводами и 3 практическими

рекомендациями, которые изложены ясно, научно обоснованно, и логично завершают работу.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Достоверность и обоснованность выводов и основных положений, представленных в диссертационной работе Поповой Натальи Николаевны, не вызывает сомнений, так как они основаны на результатах, полученных на достаточном объеме материала с использованием современной методологической базы. Автореферат отражает основное содержание диссертации. Существенных замечаний по методологическим подходам, обоснованности выводов, научной новизне и практической значимости нет.

### **Заключение**

Диссертационная работа Поповой Натальи Николаевны «Реконституция субпопуляций Т-клеток памяти у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора, академика РАН Савченко Валерия Григорьевича, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является завершенной научно-квалификационной работой, имеющей существенное практическое значение для клинической гематологии. Представленная работа Поповой Н.Н. по своей актуальности, уровню проведенных исследований и значимости полученных результатов полностью соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 года (в редакции постановлений Правительства РФ №335 от 21 апреля 2016 года, №748 от 02 августа 2016 года, №650 от 29 мая 2017 года, №1024 от 28 августа 2017 года и №1168 от 01 октября 2018 года «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к

диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Доктор медицинских наук, профессор,  
профессор кафедры клинической лабораторной  
диагностики ФГБОУ ДПО РМАНПО  
Минздрава России

Луговская С.А.

Почтовый индекс: 125993

Адрес: г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

Email: [rmapo@rmapo.ru](mailto:rmapo@rmapo.ru)

Тел. +7 (499) 252 21 04

Сайт института: <https://rmapo.ru/>

Подпись д.м.н., профессора С.А. Луговской заверяю  
Ученый секретарь ФГБОУ ДПО РМАНПО  
Минздрава России



Савченко Л.М.