

ОТЗЫВ

официального оппонента — доктора медицинских наук, профессора, заместителя директора по научной работе научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р. М. Горбачевой Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова Минздрава России **Моисеева Ивана Сергеевича** на диссертацию Дмитриевой Анны Александровны «Цитомегаловирусная инфекция и факторы, влияющие на ЦМВ-специфичный Т-клеточный иммунитет у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 – Гематология и переливание крови.

Актуальность темы диссертации

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) сопряжена с рядом нежелательных явлений и осложнений, среди которых особое место занимает цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ-инфекция). ЦМВ-инфекция является одной из лидирующих причин осложнений и смертности после алло-ТГСК, по разным данным частота встречаемости инфекции у гематологических пациентов достигает 80% и более. Известно, что у пациентов после алло-ТГСК как сама ЦМВ-инфекция, так и сопряжённая с ней превентивная и этиотропная терапия, оказывают неблагоприятное влияние на кроветворение, усугубляя цитопению. У пациентов с глубоким иммунодефицитом может развиваться и более тяжёлое течение ЦМВ-инфекции – ЦМВ-болезнь с вовлечением одного или нескольких органов-мишеней, что несомненно ухудшает прогноз и исходы лечения пациентов. В настоящее время существуют различные методы и критерии диагностики ЦМВ-инфекции. Наиболее важными являются молекулярные методы диагностики, включающие полимеразную цепную реакцию, позволяющую непосредственно установить диагноз ЦМВ-инфекции, и

мологические методы диагностики, основанные на определении антител классов IgM, IgG к цитомегаловирусу. Отдельное место занимают иммунофенотипические методы диагностики, позволяющие определять число вирус-специфичных Т-клеток, участвующих в иммунном ответе, методом проточной цитометрии. Эти методы позволяют оценить скорость реконституции ЦМВ-специфичных Т-клеток на разных сроках после трансплантации и дают возможность клиницистам «влиять» на реконституцию с помощью адоптивной терапии для пациентов с наиболее глубоким Т-клеточным дефицитом.

В последние годы проблема ЦМВ-инфекции стала особенно актуальна в связи с внедрением новых протоколов профилактики реакции «трансплантат против хозяина», которые вызывают более глубокую и продолжительную степень Т-клеточной деплеции. Также в последние годы все чаще используются альтернативные частично совместимые доноры, что также способствует более выраженной иммуносупрессии. Все эти изменения требуют более глубокого изучения антицитомегаловирусного иммунитета и способов его коррекции. Несмотря на наличие уже нескольких препаратов для лечения ЦМВ-инфекции, эта проблема до сих пор остаётся актуальной для клиницистов, особенно в трансплантационных центрах. В диссертационной работе автором сформулированы крайне актуальные задачи, решение которых позволит изменить протоколы терапии и мониторинга пациентов после трансплантации, что, в свою очередь, приведет к снижению летальности и частоты осложнений, ассоциированных с ЦМВ-инфекцией.

Целью этой научной работы явилось изучение вероятности развития ЦМВ-инфекции и факторов, влияющих на реконституцию ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток и, в этой связи является несомненной актуальность диссертационной работы Дмитровой Анны Александровны.

Научная новизна

Диссертация выполнена на достаточном объеме материала, автором были использованы современные методики, проведен корректный статистический анализ результатов исследования. В диссертации были изучены факторы, оказывающие влияние на частоту выявления ЦМВ-инфекции. В ходе исследования автор резюмирует, что к группе высокого риска развития посттрансплантационной ЦМВ-инфекции относятся ЦМВ-серопозитивные реципиенты женского пола, получившие трансплантацию от донора женского пола с генотипом HLA-A*02 / B*07.

Проведена оценка реконституции ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета на сроках +30, +90, +180 день после алло-ТГСК и автором показано, что пол реципиента, ЦМВ-серопозитивность пары донор / реципиент и режим профилактики реакции «трансплантат против хозяина» оказывают наибольшее влияние на реконституцию ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов.

Автор демонстрирует, что в случае ЦМВ-серопозитивности пары донор / реципиент количество ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов на всех сроках исследования значимо выше, чем в других серологических группах.

В работе большое внимание уделено значению влияния режима профилактики РТПХ на реконституцию. Так, применение посттрансплантационного циклофосаида и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплеции в режиме профилактики РТПХ ассоциировано с наиболее глубоким дефицитом ЦМВ-специфичных Т-клеток, поэтому автор делает вывод, что эти группы пациентов являются наиболее иммунокомпрометированными. На основании этого заключения автор показал, что выполнение трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов у пациентов после применения «высокоагрессивных» режимов профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (посттрансплантационный циклофосаид, TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплекция) оправдано на ранних сроках до +100 дня после трансплантации.

Таким образом, данная работа имеет несомненную научную новизну. Автором в полной мере изучены факторы, влияющие на реконституцию ЦМВ-

специфического Т-клеточного звена иммунитета и на развитие ЦМВ-инфекции после трансплантации у гематологических больных и успешно решена поставленная цель исследования. В диссертационной работе Дмитриевой А.А. сформулированы выводы и практические рекомендации.

Ценность для науки и практики

В ходе работы показано, что в группе пациентов с преимущественно альтернативным донором ЦМВ-инфекцию диагностируют с высокой вероятностью, до 71,4% (медиана 49 дней), что в свою очередь подкрепляет выводы о необходимости более тщательного мониторинга ЦМВ-инфекции и внедрения своевременной профилактической, превентивной и этиотропной терапии ЦМВ-инфекции у пациентов в раннем посттрансплантационном периоде. Доказано, что пол донора и реципиента и вариант молекулы HLA являются наиболее значимыми факторами, влияющими на вероятность развития ЦМВ-инфекции у пациентов после трансплантации, а именно ЦМВ-инфекцию чаще диагностируют у ЦМВ-серопозитивных реципиентов женского пола, получивших трансплантацию от донора женского пола с генотипом HLA-A*02 / В*07, где ЦМВ-инфекцию диагностировали в 92,8% и 80,2% случаев, что подтверждает экспериментальные данные об использовании цитомегаловирусом белков HLA для проникновения в клетки. Важным является заключение, что такие трансплантационные факторы как режим предтрансплантационного кондиционирования, источник трансплантата, вид донора, режим профилактики РТПХ значимого влияния на вероятность развития ЦМВ-инфекции не оказывают.

На реконституцию ЦМВ-специфического Т-клеточного иммунитета после трансплантации наибольшим образом оказывают влияние режим профилактики РТПХ, а именно при применении «высокоагрессивных» режимов профилактики РТПХ, включающих посттрансплантационный циклофосфамид и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию, количество ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) значимо ниже на +30, +90, +180 день после алло-ТГСК по сравнению с «классическими» схемами

профилактики РТПХ, включающих АТГ. Кроме того, автор демонстрирует, что при ЦМВ-серопозитивности пары донор / реципиент количество ЦМВ-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов на всех сроках исследования значимо выше, по сравнению с другими «серологическими парами».

В ходе работы автор подчеркивает, что в группе пациентов после трансфузии ЦМВ-специфичных Т-клеток число ЦМВ-ЦТЛ (кл/мкл) на +90 день было значимо больше по сравнению с группой без трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов ($p = 0,013$). Анализ показал, что применение трансфузии донорских ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов позволяет «влиять» на скорость реконституции ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета у пациентов после «высокоагрессивных» режимов профилактики РТПХ, включающих посттрансплантационный циклофосфамид и TCR $\alpha\beta$ -/CD19-деплецию в качестве режима профилактики РТПХ.

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

Цель и задачи диссертационной работы Дмитровой А.А., а также выводы и практические рекомендации, имеют важное научное значение. Репрезентативная выборка пациентов, использование автором современных молекулярно-генетических методов и методов статистической обработки данных подтверждают достоверность полученных результатов.

Таким образом, задачи, научные положения, выводы и практические рекомендации диссертации Дмитровой А.А. являются обоснованными и достоверными.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

По теме Диссертации опубликована 21 работа: из них 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 19

...ных сообщений, среди которых – 9 в англоязычных сборниках конференций. Материалы диссертации были неоднократно доложены на всероссийских и международных конференциях.

Структура и оценка содержания диссертационной работы

Диссертация изложена на 166 страницах, содержит 28 рисунков и 13 таблиц. Диссертационная работа написана в традиционном стиле и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Библиографический указатель содержит 261 литературный источник, среди которых 10 отечественных.

Во введении автор представляет актуальность проблемы, а также четко обосновывает цель и задачи работы, научную новизну и положения, выносимые на защиту.

Первая глава посвящена обзору литературы. Автором представлен обзор зарубежных и отечественных публикаций, посвящённых описанию реконституции Т-клеточного звена иммунитета, проблемам ЦМВ-инфекции у гематологических пациентов, а также подробно изложены критерии и методы диагностики ЦМВ-инфекции, описаны современные подходы к мониторингу и терапии ЦМВ-инфекции. Обзор литературы полностью отражает современное представление изучаемой проблемы, глава написана грамотно, интересно и свидетельствует о серьезном анализе и знании диссертантом самой современной научной литературы по данной тематике.

Во второй главе, посвященной материалам и методам исследования, подробно представлен дизайн исследования, критерии включения пациентов в исследование. Отдельное внимание заслуживает детальное описание этапности лабораторной части исследования и работы с проточным цитометром. Автором также представлена информация по статистической обработке данных.

В главе 3, посвящённой результатам, автор представляет результаты собственного исследования. Глава содержит 13 подглав, каждая из которых описывает основные трансплантационные факторы, влияющие на реконституцию ЦМВ-специфичных Т-клеток, а также связанную с ними частоту встречаемости ЦМВ-инфекции. Результаты работы подкрепляются информативным иллюстративным материалом в виде таблиц и рисунков. Необходимо отметить, что в каждой главе, посвященной результатам, приведены лаконичные заключения, резюмирующие информацию.

В заключении автор суммирует результаты научной работы, сопоставляет их с мировыми литературными данными. Заключение и выводы, представленные в работе, соответствуют цели и задачам диссертации, полностью отражают ключевые результаты проведенного исследования.

Обоснованность положений диссертации

Принимая во внимание объем выполненных исследований, использование современной методологической базы с применением статистической обработки полученных результатов современными статистическими методами, не вызывает сомнений достоверность и обоснованность выводов, представленных в диссертационной работе Дмитриевой Анны Александровны. Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертации.

Недостатки по содержанию и оформлению работы

Работа заслуживает положительной оценки. Отмечена высокая научно-практическая ценность диссертационной работы.

Вопросы:

1. Чем Вы можете объяснить 93% серопозитивность реципиентов ТГСК в Вашей когорте исследования? Повлияло ли это на результаты?

2. Проводилась ли в исследуемой популяции пациентов профилактика реактивации цитомегловируса с применением ганцикловира? Если да, как это учитывалось при статистической обработке материалов диссертации?

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

Заключение

Диссертационная работа Дмитровой Анны Александровны на тему: «Цитомегаловирусная инфекция и факторы, влияющие на ЦМВ-специфичный Т-клеточный иммунитет у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток» выполненная под руководством доктора медицинских наук Туполевой Татьяны Алексеевны, кандидата медицинских наук Дрокова Михаила Юрьевича, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является завершённой научно-квалификационной работой, в которой решается актуальная для гематологии научно-практическая задача: изучена вероятность развития ЦМВ-инфекции и факторы, влияющие на реконституцию ЦМВ-специфичного Т-клеточного иммунитета у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Диссертационная работа является самостоятельным научным трудом, выполненным на собственном уникальном клиническом материале с применением современных молекулярно-генетических исследований. Работа грамотно составлена и хорошо иллюстрирована. Полученные результаты имеют несомненный практический интерес и могут быть рекомендованы для внедрения в клиническую практику.

Таким образом, диссертация Дмитровой Анны Александровны по своей актуальности, уровню проведенных исследований, научной и практической ценности полученных результатов полностью соответствует пункту 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке

диссуждения ученых степеней» (с изменениями и дополнениями) в редакции от 11 сентября 2021 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:

Профессор кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета послевузовского образования имени профессора Б.В. Афанасьева,

Заместитель директора по научной работе научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р. М. Горбачевой

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава РФ,
доктор медицинских наук

Моисеев Иван Сергеевич

Адрес учреждения: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д.6-8
Тел: +7(812) 338 6265, e-mail: bmt-director@1spbgmu.ru
сайт <https://www.1spbgmu.ru/ru/>

Дата подпись

23.12.2022

Подпись Моисеева И.С. заверяю:

