

## ОТЗЫВ

официального оппонента –доктора медицинских наук, доцента, 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 Моисеева Ивана Сергеевича 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 аллогенных гемопоэтических клеток (аллоТГСК) остается эффективным методом лечения при многих злокачественных заболеваниях. Несмотря на это, эффективность применения данного метода терапии ограничена вследствие развития различных вариантов иммунологического конфликта, проявляющихся первичным неприживлением трансплантата, тяжелой недостаточностью трансплантата, острой и хронической реакцией "трансплантат против хозяина" (oРТПХ и хрРТПХ). Иммунология данных осложнений до конца не изучена, хотя известно, что значительную роль играет как экспансия Т-цитотоксических клонов из лимфоцитов трансплантата, так и формирование de novo аллореактивных клонов в условии нарушения механизмов центральной толерантности. Процесс балансируется экспансией Т-регуляторных клеток, которые отвечают за установление и поддержание толерантности после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

При успешной трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток происходит приживление трансплантата, детекция полного донорского химеризма в образцах костного мозга и/или периферической

крови. Обычно оценивается общий химеризм, и в настоящий момент известно, что общий химеризм имеет ограниченное предиктивное значение в отношении исходов, за исключением, наверное, уже развивающегося гематологического рецидива лейкозов. В связи с этим большинство центров в настоящий момент разрабатывает собственные стандарты так называемого «линейного химеризма», что и проведено в этой работе. В отличие от большинства центров, где исследуется общий Т-лимфоцитарный химеризм, в данной работе предложен уникальный протокол оценки химеризма по популяциям Т-конвенциональных лимфоцитов (Т-кон) и Т-регуляторных лимфоцитов (Т-рег). Такая уникальная методика позволила получить уникальные иммунологические данные. Дальнейшее понимание иммунологии этих процессов позволит оптимизировать принятие клинических решений в области аллоТГСК, позволит снизить частоту этого жизнеугрожающего и инвалидизирующего осложнения, а также персонализировать лечение, поэтому работа имеет высокую практическую значимость.

### **Научная новизна**

Диссертация выполнена на достаточном объеме клинического материала, включавшего различные методики профилактики РТПХ. В работе использована оригинальная комплексная методика оценки химеризма в селектированных Т-кон и Т-рег. Использование этой методики на релевантном клиническом материале позволило получить новые знания об иммунологии после аллоТГСК: продемонстрирована длительная персистенция реципиентской популяции как Т-кон, так и Т-рег. Впервые продемонстрировано влияние Т-кон и Т-рег на частоту оРТПХ. Впервые оценена динамика реципиентских популяций Т-рег после ТГСК.

### **Значимость для науки и практики результатов диссертации**

Диссертационная работа Дубняк Дарьи Станиславовны обосновывает преимущества протокола иммуносупрессивной терапии с включением

посттрансплантационного циклофосфида в сравнении с лошадиным антиtimoцитарным глобулином. В диссертации показано, что химеризм в Т-регуляторных клетках имеет предективный потенциал. Донорский химеризм менее Т-рег 82,5% среди данной популяции клеток значительно повышается риск развития поздней острой реакции «трансплантат против хозяина», что позволяет планировать посттрансплантационную иммуносупрессивную терапию.

### **Полнота изложения основных результатов диссертации 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 журнале, входящем в международные базы цитирования. Результаты диссертационной работы представлены в устных и постерных докладах на ведущих конференциях, посвященных вопросам трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа Дубняк Дарьи Станиславовны построена по традиционному плану и включает введение, обзор литературы по теме научной работы, главы материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Работа изложена на 131 странице машинописного текста. Иллюстративный материал включает 24 рисунка и 9 таблиц. Список литературы включает 194 литературных источников: 6 отечественных и 188 зарубежных источников.

Во введении представлена актуальность выбранной темы и степень ее разработки, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна,

практическое значение проведенного исследования, а также выдвинуты положения, выносимые на защиту.

В главе посвященной обзору литературы автором выполнен подробный анализ данных литературы. Изложена информация о субпопуляциях Т-хелперов периферической крови и их функциональных особенностях. В обзоре даны сведения о режимах профилактики реакции «трансплантат против хозяина». Описана роль Т-регуляторных клеток в развитии острой реакции «трансплантат против хозяина». Автор детально повествует о химеризме после трансплантации аллогенных гемопоэтических клеток, описывает классификацию химеризма и методы его исследования. Подробно рассмотрена связь химеризма и развитие иммунологических осложнений.

В главе 2, посвященной материалам и методам исследования дана характеристика пациентов, включенных в диссертационную работу. Автор подробно описывает проведение магнитной сепарации клеток, выделение необходимых клеточных популяций с дальнейшим выполнением экстракции ДНК и постановкой полимеразной цепной реакции.

Глава 3 посвящена описанию собственных результатов исследования. В диссертации показано, что в ранние сроки имеются различия химеризма среди отдельных популяций Т-клеток (Т-конвенциональные, Т-регуляторные клетки) и костном мозге, так примесь хозяйского кроветворения среди клеток костного мозга значимо ниже, чем среди Т-клеток периферической крови. Проведена оценка различных факторов, таких как вариант острого лейкоза, статус до трансплантации, совместимость пары донор-реципиент, интенсивность кондиционирования, режим иммуносупрессивной терапии на химеризм в отдельных популяциях Т-хелперов. Автором показано, что основное влияние на химеризм оказывает иммуносупрессивная терапия. Так, в рамках научной работы доказано, что при применении посттрансплантационного циклофосфамида значимо меньше количество Т-регуляторных клеток, имеющих генотип реципиента, в сравнении с использованием лошадиного антитимоцитарного глобулина.

Обсуждение полученных результатов написано лаконично, автор проводит анализ литературных данных и детально интерпретирует полученные результаты.

Научная работа завершается заключением, выводы демонстрируют основные достижения автора, соответствуют поставленным целям и задачам.

### **Обоснованность положений диссертации**

Принимая во внимание объем выполненных исследований, использование современной методологической базы с применением статистической обработки полученных результатов, не вызывает сомнений достоверность и обоснованность выводов, представленных в диссертационной работе Дубняк Дарьи Станиславовны.

### **Недостатки по содержанию и оформлению работы**

Текст диссертации написан хорошим языком, данные представлены логично, иллюстрированный материал помогает восприятию информации. Существенных замечаний по методологическим подходам, обоснованности выводов, научной новизне и практической значимости нет. Есть единичные опечатки и стилистические ошибки, которые не влияют на достоверность выводов. Работа заслуживает положительной оценки.

Вопросы:

1. В связи с тем, что выявлена значимая корреляция химеризма в Т-кон и Т-рег, оценивали ли Вы прогностическую значимость персистенции общего CD4+ химеризма реципиента на развитие поздней острой РТПХ, как прогностическая значимость этой общей популяции соотносилась с популяцией Т-регуляторов?
2. Как вы можете описать биологические механизмы, которые связывают персистенцию Т-клеток реципиента и позднюю острую РТПХ?

3. Оценивали ли вы влияние реципиентского Т-клеточного химеризма после трансплантации на развитие хронической РТПХ и ее клинические проявления?

Вопросы, 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 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

