

Отзыв официального оппонента

доктора медицинских наук, профессора кафедры факультетской терапии с клиникой Института медицинского образования Национального медицинского исследовательского центра им. В.А.Алмазова Министерства здравоохранения Российской Федерации Салогуб Галины Николаевны на диссертационную работу Цветкова Николая Юрьевича на тему «Факторы прогноза при терапии пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 – гематология и переливание крови

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Цветкова Николая Юрьевича посвящена актуальной проблеме современной гематологии – определению новых факторов прогноза у пациентов с миелодиспластическим (МДС) синдромом высокого риска с целью улучшения результатов терапии.

Миелодиспластический синдром (МДС) представляет собой гетерогенную группу клональных заболеваний с поражением гемопоэтической стволовой клетки крови, в лечении которого до настоящего времени отмечался только умеренный прогресс. Единственным излиевающим методом терапии МДС по-прежнему является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), однако ряд вопросов, в частности, определение четких показаний и оптимального времени для проведения алло-ТГСК остаются открытыми для обсуждения. Принятие решения о трансплантации затруднено также в силу высокого риска осложнений, часто преклонного возраста пациентов, различной сопутствующей патологии, а так же труднодоступностью полностью совместимого донора костного мозга.

Существующие прогностические системы, такие как IPSS, IPSS-R и WPSS, были разработаны для оценки риска заболевания на этапе диагностики вне зависимости от конкретного метода терапии и для кандидатов на алло-ТГСК вне зависимости от диагноза и не специфичны для МДС, что ограничивает их применение. В некоторых работах в качестве прогностических факторов рассматриваются молекулярно-генетические особенности, при этом недостаточное внимание обращено на данные проточной цитометрии и характеристики опухолевого микроокружения.

Таким образом, поиск новых факторов прогнозирования ответа на современную терапию пациентов с МДС требует проведения дополнительных исследований, в связи с чем диссертационная работа Цветкова Н.Ю. является актуальной.

Цель исследования поставлена четко - совершенствование стратификации пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска по результатам молекулярно-генетического и иммунофенотипического обследования с определением срока выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, оптимального для значимого улучшения беспрогрессивной и общей выживаемости.

Задачи исследования конкретны, достаточны для достижения поставленной цели, что позволяет выявить новые факторы, влияющие на выживаемость пациентов с МДС высокого риска и определить оптимальные сроки выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Значимость для науки и практики результатов диссертации и конкретные пути их использования, их новизна

Научная новизна работы представлена данными по качественному и количественному анализу молекулярно-генетических мутаций у пациентов с МДС. Было показано отрицательное прогностическое значение мутаций генов ASXL1, TP53, DNMT3A, DROSHA и SRSF2 на выживаемость без прогрессирования больных МДС. Проведенное автором исследование уровня

экспрессии молекул иммунных контрольных точек у пациентов с МДС продемонстрировало прогностическую значимость уровня экспрессии CD80, количества PD-L1+ Т-регуляторных клеток, в том числе и на увеличение кумулятивной частоты прогрессирования. В работе впервые была продемонстрирована связь отдельных мутаций и иммунофенотипических параметров клеток костного мозга на примере RUNX1 и TIM3+CD8+. Определена необходимость расширения объема обследования, разработаны общие принципы молекулярно-генетического и иммунофенотипического исследований у пациентов с МДС в клинической практике.

Практическая значимость сомнений не вызывает. В результате проведенной работы автором был продемонстрирован независимый положительный эффект аллогенной алло-ТГСК в отношении выживаемости без прогрессирования пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска и определён оптимальный временной период для ее выполнения (в течение первого года от момента постановки диагноза).

Результаты исследования внедрены в практику работы Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Городской клинической больницы № 31, Ленинградской областной клинической больницы.

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

Степень достоверности проведенных исследований основана на репрезентативной выборке пациентов, включенных в исследование, а также на использовании адекватных современных методов статистической обработки полученных данных, соответствующих поставленным целям и задачам. Обсуждение результатов исследования было представлено на ключевых отечественных и мировых конгрессах и научно-практических конференциях, по теме диссертации опубликовано 3 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Scopus, 1 статья в журнале, рекомендованном ВАК, что подтверждает достоверность и новизну выполненной работы.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом, замечания по оформлению

Диссертационная работа Цветкова Н.Ю. построена по классическому типу, изложена на 123 страницах, содержит введение, обзор литературы, главу о материалах и методах исследования, главы собственных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций. Работа хорошо иллюстрирована, содержит 31 рисунок и 8 таблиц. Список литературы содержит 207 источников, в том числе 12 отечественных и 195 зарубежных.

Во введении представлена актуальность исследования, сформулированы цель и задачи, изложены научная новизна и практическая значимость исследования. Глава содержит сведения о положениях, выносимых на защиту, о степени достоверности и апробации результатов.

Обзор литературы широко освещает современные представления о патогенезе МДС, эпидемиологию, в том числе вторичной природы, клиническую картину, современную диагностику патологии, методы определения и биологические факторы прогноза, а также современные тренды в лечении заболевания, в том числе с использованием аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток, а также данные о перспективных методах лечения.

В главе «Материалы и методы» автором представлены данные о пациентах, включенных в исследование. Это 115 пациентов с подтвержденным диагнозом миелодиспластического синдрома, 66 из которых были включены проспективно в процесс выполнения работы. В главе подробно приведена характеристика больных, включенных в исследование, перечислены факторы, влияние которых в последующем оценивалось, проводимая терапия, в том числе алло-ТГСК и оценка результатов. Отдельно описаны использованные лабораторные методы и методы статистического анализа данных.

Третья глава подробно освещает результаты, полученные в ходе проведенного исследования. Данный раздел состоит из 9 подразделов.

Первый подраздел описывает клинические исходы и факторы прогноза у пациентов с миелодиспластическим синдромом в общей группе. Проведена оценка влияния на выживаемость и частоту прогрессирования таких факторов, как уровень ферритина сыворотки, фиброза стромы костного мозга, количества баллов в соответствии с системой стратификации IPSS-R.

Второй подраздел главы «Результаты» посвящён факторам прогноза в группе консервативной терапии. По результатам многофакторного анализа показано влияние на однолетнюю общую выживаемость возраста пациента, количества баллов по IPSS-R, наличия фиброза стромы костного мозга.

В третьем подразделе автор анализирует клинические исходы и факторы прогноза у пациентов группы алло-ТГСК. Развитие острой РТПХ 1–2-й степени, отсутствие септических эпизодов и индекс риска заболевания (DRI) сохранили свое положительное влияние на выживаемость пациентов с МДС, получивших алло-ТГСК, по результатам многофакторного анализа.

Четвертый подраздел главы посвящен сравнению клинических исходов у пациентов с миелодиспластическим синдромом в группах консервативной терапии и аллогенной трансплантации. Показано бесспорное положительное влияние на двухлетнюю выживаемость проведения алло-ТГСК.

В 5 подразделе оценивается прогностическая значимость экспрессии молекул иммунных контрольных точек в трепанобиоптатах костного мозга исследуемой популяции пациентов. Продемонстрировано отрицательное влияние как уровня экспрессии CD80, так и общей экспрессии лигандов контрольных точек на время до прогрессирования в течение трехлетнего периода, которое не зависело от группы риска по шкале IPSS-R. Кластерный анализ выявил связь между экспрессией молекул контрольных точек CD80, PD-L2, TIM-3, количеством бластов костного мозга и группой риска по шкалам IPSS и IPSS-R.

В подразделе 6 «Прогностическая значимость определения мутационного статуса пациентов с МДС методом секвенирования нового

поколения» дана подробная характеристика исследуемой популяции и частота выявленных мутаций в генах метилирования (ASXL1, TET2, DNMT3A, IDH1), а также генах RUNX1, SF3B1. Анализ мутаций в генах иммунных контрольных точек и в генах процессинга микро-РНК выявил значительное количество событий в генах PD-L1, B7-H3, PD-1, CTLA4, LAG-3, а также DROSHA и DICER1. Наличие мутаций в гене TP53 или \geq 2 мутаций в генах метилирования имело неблагоприятное значение в отношении пятилетнего времени до прогрессирования вне зависимости от проведенного консервативного лечения или алло-ТГСК. Пациенты с более высокой распространностью мутаций SF3B1 (кластер 1) характеризовались значительно более высокими уровнями 5-летней общей выживаемости по сравнению с пациентами, которым была присуща большая частота мутаций генов ASXL1, RUNX1 и PD-L1 (кластер 2).

Седьмой подраздел посвящен прогностической значимости определения экспрессии молекул иммунных контрольных точек на субпопуляциях клеток костного мозга у пациентов с МДС методом проточной цитометрии. Отмечена обратная взаимосвязь между уровнем популяций иммунокомпетентных клеток и гемопоэтических предшественников. Показано, что пациенты с уровнем PD-L1+ Т-регуляторных клеток более 0,003% от всех ядро содержащих клеток костного мозга характеризовались меньшей 2x-летней выживаемостью без прогрессирования и более высокой частотой прогрессирования.

Прогностической значимости определения мутационного статуса пациентов с МДС методом прямого секвенирования по Сэнгеру посвящен подраздел 8. Показано, что точечные мутации в генах SF3B1, DNMT3A, FLT3, GATA2, SRSF2, TP53 чаще встречались у пациентов старшей возрастной группы. Наличие мутации генов RUNX1 и TP53 отрицательно сказывались на выживаемости пациентов. Количество мутированных генов негативно отражалось на двухлетней частоте прогрессирования. На основе объединения данных секвенирования нового поколения и прямого

секвенирования по Сэнгеру был составлен профиль молекулярных мутаций у пациентов с МДС и выделены группы с наиболее высоким уровнем прогрессирования.

Сочетанный анализ полученных данных приведен в подразделе 9 «Комбинация определения экспрессии молекул иммунных контрольных точек на субпопуляциях клеток костного мозга методом проточной цитометрии и мутационного статуса методом прямого секвенирования по Сэнгеру для уточнения прогноза пациентов с миелодиспластическим синдромом». При объединении значений уровня PD-L1+ Т-регуляторных клеток костного мозга и факта наличия мутаций в одном из исследованных генов автором были выделены 4 подгруппы пациентов с МДС с различной общей выживаемостью: пациенты с МДС с повышенным уровнем PD-L1+Т-регуляторных клеток с мутациями характеризовались наиболее низкой 2х-летней выживаемостью. В ходе исследования соискателем выделены наиболее важные биологические факторы прогноза МДС высокого риска, положительно и отрицательно влияющие на выживаемость пациентов.

В главе 4 «Обсуждение результатов исследования» автор сопоставляет полученные результаты с литературными данными, указывает на определенные сложности интерпретации ряда исследований.

В заключении Цветков Н.Ю. обсуждает принципиальную возможность и необходимость оценки комбинации данных молекулярной генетики с данными иммунофенотипирования в группе пациентов с МДС высокого риска для поиска новых терапевтических решений, включая более эффективные прогностические шкалы. По мнению автора это будет способствовать не только поиску новых точек приложения для инновационных препаратов, но также определению вероятности ответа на существующие методы терапии. Подчеркивается значимость дальнейшей работы в этом направлении.

Выводы хорошо сформулированы, полностью соответствуют поставленным целям и задачам.

Диссертация написана литературным языком, хорошо иллюстрирована. Основные положения диссертационного исследования изложены в автореферате на 22 страницах машинописного текста, дополненного иллюстрациями в виде таблиц и рисунков. В автореферате в сжатой форме отражены основные результаты исследования, обоснованы ключевые положения и выводы работы. Содержание автореферата соответствует сути диссертационного исследования.

Личный вклад автора не вызывает сомнений.

Принципиальных замечаний по диссертации нет.

В порядке дискуссии хотелось бы уточнить:

1. Чем можно объяснить высокий уровень экспрессии трансмембранных гликопротеина 1-го типа TIM3 у пациентов исследуемой группы, выявленный при имmunогистохимическом исследовании?

2. Имеются ли какие-либо данные о патогенетическом значении при МДС описанной распространенности мутаций в генах процессинга миРНК?

Выводы и практические рекомендации возражений не вызывают, они логично вытекают из содержания работы. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы несомненен. Автореферат Цветкова Н.Ю. полностью соответствует содержанию диссертации.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Цветкова Николая Юрьевича «Факторы прогноза при терапии пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28 – гематология и переливание крови является законченным научно-квалификационным трудом, в котором решена актуальная проблема определения клинических и биологических факторов прогноза и роли аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска, имеющая важное значение для гематологии.

Диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21 апреля 2016 г., №1168 от 01 октября 2018 г., а ее автор Цветков Николай Юрьевич заслуживает присуждения искомой степени по специальностям 3.1.28 – гематология и переливание крови

Официальный оппонент:

Директор института гематологии и онкологии,
профессор кафедры факультетской терапии с
клиникой Института медицинского образования
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский центр
имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, доктор медицинских наук
(3.1.28. Гематология и переливание крови)

Г.Н.Салогуб

Согласна на обработку моих
персональных данных

Г.Н.Салогуб Салогуб Галина Николаевна

Контактные данные:

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2
Контактный телефон: +7(812) 702-37-84
Эл. адрес: Salogub@bk.ru

09.01.2023

Подпись Г.Н. Салогуб

«09 » 01

заверяю

2023г. ОТДЕЛ
ПЕРСОНАЛА

