

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по

поликлинической работе

ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ»

А.В. Жарикова

12 апреля 2024 года

ОТЗЫВ

оппонирующей организации ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» на диссертационную работу Емельяновой Ирмы Владимировны «Прогнозирование эффективности и совершенствование терапии у детей с тяжелой приобретенной апластической анемией», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

В соответствии с п 42 главы 6 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоения ученых званий», утвержденного Указом Президента Республики Беларусь 17.11. 2004 № 560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь 23.06.2023 №180), п.п. 38, 44, 45 «Положения о совете по защите диссертаций», утвержденного Постановлением Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь 22.02.2005 №19 (в редакции постановления Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь 19.08.2022 №2), на основании решения совета по защите диссертаций Д 03.03.01 при государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» от 22.03.2024 в соответствии с приказом директора государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (далее – РНПЦ РМ и ЭЧ) от 25.03.2024 № 155-адм, проведено расширенное заседание Ученого совета (научное собрание, протокол № 5) при участии членов Ученого совета РНПЦ РМ и ЭЧ, сотрудников лабораторий эпидемиологии, радиационной защиты, клинических исследований, сотрудников клинических отделений: отделения аллергологии и иммунопатологии, онкологического гематологического отделения для детей и гематологического отделения для взрослых РНПЦ РМ и ЭЧ по обсуждению диссертации Емельяновой Ирмы Владимировны «Прогнозирование эффективности и совершенствование терапии у детей с тяжелой приобретенной апластической анемией», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови (медицинские науки).

Председатель научного собрания: заместитель директора по научной работе РНПЦ РМ и ЭЧ, д.м.н., профессор В.М. Мицура.

Эксперт по диссертации: врач-детский онколог-гематолог (заведующий) онкологического гематологического отделения для детей РНПЦ РМ и ЭЧ, к.м.н. Ирина Парфирьевна Ромашевская.

Секретарь: ученый секретарь РНПЦ РМ и ЭЧ, к.б.н. Наталья Николаевна Веялкина.

Заседание состоялось 12 апреля 2024 года в 12.00. На заседании присутствовало 30 человек, из них: докторов медицинских наук – 1 человек, докторов биологических наук – 1 человек, кандидатов медицинских наук – 14 человек, кандидатов биологических наук – 6 человек, кандидатов технических наук – 1 человек, кандидатов сельскохозяйственных наук – 1, человек, без степени 6 человек.

На научном собрании И.В. Емельянова представила доклад по диссертации, содержащий основные результаты исследований. Соискателю заданы вопросы, на которые получены полные ответы. Диссертация выполнена под научным руководством ведущего научного сотрудника лаборатории клинических исследований научного отдела РНПЦ ДОГИ, к.м.н., доцента Татьяны Алексеевны Угловой.

В выступлении эксперта по диссертации И.П. Ромашевской, врача-гематолога (заведующий) гематологического отделения для детей РНПЦ РМ и ЭЧ, к.м.н., доцента были изложены основные положения проекта отзыва диссертации, в котором отражены следующие разделы.

Актуальность

Приобретенная апластическая анемия – орфанное, потенциально жизнеугрожающее заболевание. Поиск новых методов лечения пациентов с тяжелой приобретенной апластической анемией (тПАА), не имеющих родственного HLA-совместимого донора для аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), является актуальной проблемой современной гематологии. Выявление факторов прогноза гематологического ответа при иммуносупрессивной терапии (ИСТ) и применение аллогенного биомедицинского клеточного продукта мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для улучшения результатов последней является перспективным направлением. В этой связи, диссертационная работа И.В. Емельяновой представляется актуальной с научной точки зрения и имеет большое прикладное значение в практическом здравоохранении.

**Соответствие диссертации специальности и отрасли науки,
по которым она представлена к защите**

Диссертационная работа Емельяновой Ирмы Владимировны «Прогнозирование эффективности и совершенствование терапии у детей с тяжелой приобретенной апластической анемией» по своему названию, цели, задачам, положениям, выносимым на защиту, содержанию, результатам исследования и заключению полностью соответствует специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови, отрасли «Медицинские науки» и профилю Совета Д 03.03.01 по защите диссертаций при государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

**Научный вклад соискателя в решение научной задачи
с оценкой его значимости**

Научный вклад диссертанта в решение научной задачи подтверждается представленными в работе результатами. Так, впервые установлено, что предикторами гематологического ответа ИСТ у пациентов детского возраста тПАА являются: абсолютное число гранулоцитов и абсолютное число ретикулоцитов периферической крови на момент постановки диагноза, а также такие лабораторные параметры, определяемые на 64 день терапии, как абсолютное число ретикулоцитов периферической крови, относительный уровень CD19+ лимфоцитов периферической крови, количество колониеобразующих единиц гранулоцитов и макрофагов (КОЕ-ГМ) и бурс-образующих единиц эритроцитов (БОЕ-Э) костного мозга как в среде без ростовых факторов, так и при культивировании клеток-предшественников в среде с ростовыми факторами.

Автором разработан алгоритм прогнозирования ИСТ у пациентов детского возраста с тПАА с учетом пролиферативной активности предшественников гемопоэза *in vitro*.

Впервые доказано, что неблагоприятным прогностическим фактором ИСТ у пациентов детского возраста с тПАА являлось наличие аллельных вариантов с.178_179insCCGCAGCGGCCGCAGCGC в гене *MSH3*, с.С4480G в гене *POLE* и с.С327С в гене *POLD1*.

Установлено, что МСК костного мозга пациентов детского возраста с тПАА характеризуются сниженной пролиферативной активностью, повышенным адипогенным потенциалом, ослаблением функциональной способности поддержки гемопоэза.

Обосновано применение эффективного метода применения аллогенного биомедицинского клеточного продукта МСК костного мозга при проведении ИСТ у пациентов детского возраста с тПАА, позволяющий увеличить кумулятивную частоту полного гематологического ответа и бессобытийную выживаемость пациентов с тПАА.

Таким образом, научные результаты, выносимые на защиту, обладают высокой научной значимостью.

Конкретные научные результаты, их новизна и практическая значимость, за которые соискателю может быть присуждена ученая степень кандидата медицинских наук

На основании результатов выполненных исследований в соответствии с научными положениями, выносимыми на защиту, получены принципиально новые результаты, представляющие научную ценность, а именно:

1. Впервые установлено, что гематологический ответ на 180 день ИСТ у пациентов детского возраста с тПАА предопределяет ее эффективность. Общая выживаемость пациентов детского возраста с тПАА, у которых на 180 день ИСТ зафиксирован гематологический ответ, составила $95,5\% \pm 5\%$, что достоверно выше, чем у пациентов без гематологического ответа к этому дню ($p = 0,0057$), и не отличается от общей выживаемости пациентов с гематологическим ответом на 360 день ИСТ ($92\% \pm 6\%$).

2. Выявлено, что основными предикторами гематологического ответа на 180 день ИСТ являются количество КОЕ-ГМ без стимуляции ≥ 9 колоний на 10^5 клеток костного мозга, БОЕ-Э со стимуляцией ≥ 3 колоний на 10^5 клеток костного мозга и относительное содержание CD 19+ лимфоцитов периферической крови $< 5,1\%$, определяемые на 64 день ИСТ.

3. Доказано, что пациенты, имеющие аллельные варианты с.178_179insCCGCAGCGGCCGCAGCGC в гене *MSH3*, с.С4480G в гене *POLE* и с.С327С в гене *POLD1* геномной ДНК, являются группой высокого риска неэффективности ИСТ с низкой долгосрочной выживаемостью ($20\% \pm 14\%$, $p = 0,0029$).

4. Впервые показано, что МСК костного мозга пациентов детского возраста с тПАА характеризуются сниженной пролиферативной активностью, повышенным адипогенным потенциалом, ослаблением функциональной способности поддержки гемопоэза.

5. Установлено, что введение биомедицинского клеточного продукта МСК является эффективным способом усиления ИСТ у пациентов детского возраста с тПАА.

Научная значимость результатов диссертации подтверждается публикациями полученных результатов в отечественных и зарубежных научных изданиях.

Представленную работу отличает ее большая практическая направленность. В результате исследований, выполненных автором в диссертационной работе, разработан алгоритм прогнозирования гематологического ответа на ИСТ, выявлены аллельные варианты в генах *MSH3*, *POLE*, и *POLD1*, позволяющие выявить группу пациентов с высоким риском неэффективности ИСТ. Предложенный метод введения биомедицинского клеточного продукта МСК позволил улучшить результаты ИСТ пациентов с тПАА, не имеющих HLA идентичного родственного донора для выполнения алло-ТГСК в первой линии терапии.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Анализ содержания диссертации и автореферата, опубликованных работ, приложений, презентации результатов исследований на конференциях и съездах, а также специальность и квалификация соискателя (врач детский онколог-гематолог высшей квалификационной категории), позволяют заключить, что Емельянова И.В. является квалифицированным научным работником, способным глубоко осмысливать, анализировать предмет исследования, грамотно обрабатывать и интерпретировать полученные результаты и литературные сведения, формулировать обоснованные выводы и заключения. Диссертант полностью соответствует требованиям, предъявляемым к соискателям ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Конкретные рекомендации по возможному использованию результатов и выводов диссертации

Практическое использование результатов диссертационной работы Емельяновой И.В. подтверждается инструкцией по применению №049 – 0419, утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь 25.04.2019 «Метод лечения пациентов с приобретенной апластической анемией с использованием аллогенных мезенхимальных стволовых клеток», которая предназначена для врачей-гематологов. Метод позволяет улучшить результаты ИСТ пациентов детского возраста с тПАА без усиления агрессивного воздействия в целом на детский организм.

Автором предложен алгоритм прогнозирования гематологического ответа к 180 дню ИСТ, который способствует раннему выявлению пациентов с благоприятным прогнозом ИСТ, а также выделению группы пациентов, для

которых необходимо раннее принятие решения об алло-ТГСК от неродственного HLA идентичного донора или гаплоидентичной ТГСК.

Экономическая и социальная значимость результатов диссертации заключается в улучшении качества оказания медицинской помощи в Республике Беларусь пациентам с тПАА.

Таким образом, анализ представленной работы позволяет сделать положительное заключение о научной, практической и экономической значимости результатов диссертационного исследования, внедрение которых будет способствовать решению важной научной проблемы – повышению эффективности лечения пациентов с тПАА путем использования клеточных технологий и индивидуализации терапии на основе прогностических факторов.

Результаты диссертации могут быть использованы в практической деятельности врачами-гематологами, специалистами в области лабораторной диагностики, а также в обучении аспирантов и студентов медицинских вузов.

Результаты исследования внедрены в работу РНПЦ ДОГИ.

Вопросы и замечания по диссертационной работе

В процессе анализа диссертации Емельяновой И.В. существенных замечаний, влияющих на научно-практическую значимость работы и ее общую положительную оценку, не возникло. При чтении диссертации возник ряд вопросов:

- в работе имеется большое число сокращений, затрудняющих восприятие текста;

- в работе имеются стилистические и терминологические неточности («патогномоничные показатели гемограммы» на с.43, «декретивные сроки» на с.52);

- в результатах ROC-анализа не приведены значения 95% доверительных интервалов для площади под кривой (AUC) и не везде в тексте указаны точные значения уровня значимости p ;

- в дизайне исследования недостаточно подробно описаны сроки наблюдения пациентов, тогда как на рис. 3.1, 3.3, 4.3, 5.8 сроки наблюдения превышают 20 лет.

- в работе имеется выражение «общая выживаемость пациентов... с гетерозиготным аллельным вариантом... с.A4576G... составила 100%», а пациентов с аллельным вариантом ... в гене MSH3 – 0%», различия не подтверждены результатами статистического анализа.

Указанные вопросы касаются лишь отдельных аспектов работы и не влияют на общую высокую оценку диссертационного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Емельяновой Ирмы Владимировны «Прогнозирование эффективности и совершенствование терапии у детей с тяжелой приобретенной апластической анемией», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови, является самостоятельно выполненным научным исследованием, актуальным для практического здравоохранения. Работа посвящена улучшению результатов лечения пациентов детского возраста с тПАА, алгоритм терапии которых включает в себя алло-ТГСК от родственного НЛА-совместимого донора, а при его отсутствии – ИСТ. Применение клеточных технологий, в частности, использование биомедицинского клеточного продукта МСК, представляет собой перспективное направление и позволяет повысить эффективность проводимой ИСТ. Диссертация содержит современные научно-обоснованные результаты, совокупность которых является этапным достижением в развитии специальности «гематология и переливание крови».

Доказательность научных положений и выводов свидетельствует о высокой научной и профессиональной квалификации автора. Оформление диссертационной работы соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь.

Работа И.В. Емельяновой по своей научной новизне и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пункты 20 и 21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь № 560 от 17.11.2004 г. (в редакции Указа Президента Республики Беларусь от 23.06.2023 № 180), а соискатель достоин искомой степени.

Ученая степень кандидата медицинских наук Емельяновой И.В. может быть присуждена за:

- установление прогностической значимости определения КОЕ-ГМ в среде без ростовых факторов и БОЕ-Э в среде с ростовыми факторами у детей с тПАА;

- разработку алгоритма прогнозирования гематологического ответа на ИСТ у детей с тПАА с целью ранней идентификации пациентов с благоприятным прогнозом ИСТ, а также выделению группы пациентов – кандидатов на ТГСК от альтернативного донора;

- выявление неблагоприятного прогностического значения наличия гетерозиготного аллельного варианта с.178_179insCCGCAGCGGCCGCAGCGC в гене *MSH3*, гетерозиготных аллельных вариантов с.С4480G в гене *POLE* и с.G327C в гене *POLD1* геномной ДНК у пациентов детского возраста с тПАА;

- установление повышенного адипогенного потенциала МСК костного мозга, снижения их пролиферативной способности и ослабления способности поддерживать пролиферацию CD34+ клеток;

- разработку метода введения биомедицинского клеточного продукта МСК при проведении ИСТ, позволяющего увеличить бессобытийную выживаемость пациентов детского возраста с тПАА.

Диссертация Емельяновой Ирмы Владимировны «Прогнозирование эффективности и совершенствование терапии у детей с тяжелой приобретенной апластической анемией» по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови рекомендуется к защите в Совете по защите диссертаций Д 03.03.01 при Государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

Отзыв принят открытым голосованием.

В голосовании приняли участие 24 человека, в том числе: докторов медицинских наук – 1, докторов биологических наук – 1, кандидатов медицинских наук – 14, кандидатов биологических наук – 6, кандидатов технических наук – 1, кандидатов сельскохозяйственных наук – 1.

Результаты голосования: «за» – 24; «против» – нет, «воздержались» – нет.

Председатель научного собрания –
заместитель директора по научной
работе РНПЦ РМ и ЭЧ, д.м.н., профессор

В.М. Мицура

Эксперт –
врач-детский онколог-гематолог (заведующий)
онкологического гематологического
отделения для детей РНПЦ РМ и ЭЧ, к.м.н.

И.П. Ромашевская

Секретарь заседания –
ученый секретарь РНПЦ РМ и ЭЧ, к.б.н.

Н.Н. Вейлкина

Подписи В.М. Мицуры, И.П. Ромашевской, Н.Н. Вейлкиной удостоверяю.
Специалист по кадрам

