

С отрывком ознакомлена
21.05.2026г. Др. Е.А. Дрицкая

Отзыв официального оппонента

доктора биологических наук, профессора Державец Лилии Александровны
на диссертационную работу Примаковой Евгении Алексеевны
**«Обоснование выбора мезенхимальных стволовых клеток для
применения при острой реакции «трансплантат против хозяина» на
основе оценки их иммунобиологических характеристик»,**
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

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

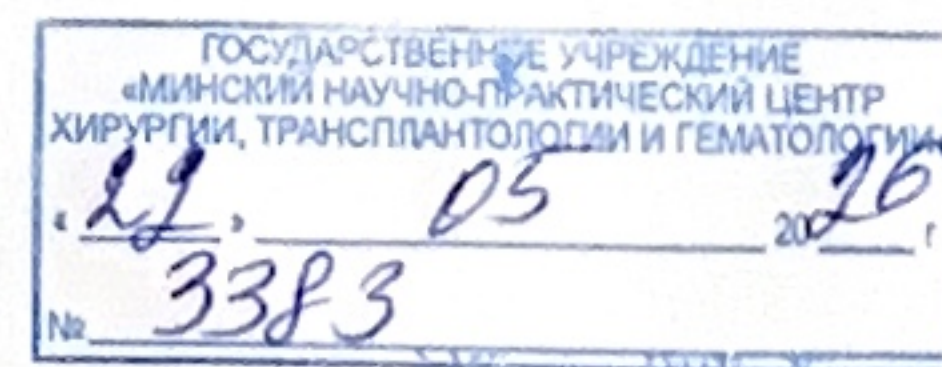
Диссертационная работа посвящена поиску дополнительных лабораторных критериев риска развития острой реакции «трансплантат против хозяина» (ОРТПХ) после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК), а также критериев подбора мезенхимальных стволовых клеток (МСК) с наибольшим иммуномодулирующим потенциалом для оптимизации и повышения эффективности клеточной терапии при ОРТПХ.

Содержание, защищаемые положения и выводы диссертационной работы полностью соответствуют паспорту специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы, а именно п. 8 «Изучение этиологии, патогенеза, профилактики и коррекции патологических реакций, связанных с биологической несовместимостью органов и тканей реципиента при внедрении в него чужеродных клеток и тканевых структур», п. 9 «Разработка, испытание и практическое применение лекарственных средств, физико-химических и биологических факторов и различного рода воздействий, направленных на подавление реакции отторжения чужеродного органа, части органа, тканей или клеток человека или животных в экспериментальных и клинических условиях».

Так как диссертационная работа проведена с использованием МСК жировой ткани и экспериментально обосновывает применение биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) в клинической практике, а также новые возможности лабораторной диагностики ОРТПХ, то по характеру исследования, полученным результатам и выводам относится к отрасли «биологические науки».

Актуальность темы диссертации

Острая реакции «трансплантат против хозяина» является одним из наиболее частых жизнеугрожающих осложнений аллоТГСК. Клеточная терапия с использованием БМКП на основе МСК широко применяется в комплексном лечении данного состояния, а ее применение регламентируется клиническим протоколом «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (взрослое население)», утвержденным постановлением Минздрава РБ от 13 февраля 2023 г. №31.



Несмотря на то, что в Республике Беларусь накоплен значительный опыт применения БМКП на основе МСК в профилактике и лечении оРТПХ как у взрослых, так и у детей, механизмы взаимодействия МСК и иммунокомпетентных клеток до конца не изучены, а эффект, получаемый от клеточной терапии, не всегда предсказуем.

Диссертация Примаковой Е.А. вносит существенный вклад в понимание ряда аспектов реализации иммуномодулирующего действия МСК при со-культивировании с лимфоцитами пациентов с оРТПХ и способствует персонализации клеточной терапии данного иммунопатологического состояния, что обуславливает несомненную актуальность и темы диссертации, и полученных в ней результатов.

Тема диссертации, ее содержание и основные выводы полностью соответствуют приоритетным направлениям научно-технической деятельности в Республике Беларусь.

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту

Научная новизна представленных в диссертации результатов, выводов и положений, выносимых на защиту, не вызывает сомнений.

Полученные в диссертационной работе Примаковой Е.А. результаты углубляют представление о реализации иммуномодулирующих свойств МСК в зависимости от индивидуальных иммунобиологических особенностей лимфоцитов пациентов с оРТПХ и донорских МСК, что позволяет научно обосновать подход к выбору оптимального БМКП для применения при оРТПХ и обеспечить высокий процент клинического ответа на клеточную терапию (83%).

Автором определена диагностическая значимость количественной оценки пролиферативной активности лимфоцитов донора и реципиента аллоГСК в смешанной культуре *in vitro* и установлены пороговые значения индекса стимуляции как прогностического фактора риска оРТПХ в посттрансплантационном периоде. Показано, что концентрация ИЛ-8 более 5,56 пг/мл и ИЛ-21 более 0,218 пг/мл в плазме крови пациентов после аллоТГСК является дополнительным критерием диагностики оРТПХ.

Впервые показано, что взаимодействие между МСК и лимфоцитами периферической крови необходимо для реализации иммуномодулирующих свойств МСК посредством действия растворимой формы молекулы HLA-G и не влияет на высвобождение иммунорегуляторной молекулы Gal-1 *in vitro*.

Существенным результатом исследования стала предложенная автором *in vitro* модель культивирования лимфоцитов пациентов с оРТПХ одновременно на подложках из нескольких культур МСК с последующей оценкой динамики субпопуляционного состава лимфоцитов. Данный подход позволил оптимизировать выбор БМКП на основе МСК для применения при оРТПХ и достичь клинического ответа более чем в 80% случаев.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность выводов и результатов диссертации базируется на избранной методологии, а также сложном дизайне исследования, включающим как определение лабораторных прогностических критериев и биомаркеров оРТПХ с целью идентификации пациентов группы высокого риска в ранние сроки после аллотГСК, так и выбор оптимального БМКП для применения при оРТПХ с учетом индивидуальных особенностей донора и реципиента МСК.

Положительным моментом является использование диссертантом не только традиционных (морфологический анализ, постановка клеточных культур, иммуноферментный анализ), но и высокотехнологичных лабораторных методов исследования (проточная цитометрия, мультиплексный анализ).

Выдвинутые автором положения отвечают поставленной цели и задачам работы. Достоверность полученных результатов подтверждается убедительно сформулированными выводами, проведенной апробацией материалов исследования.

Рекомендации по практическому использованию, сделанные на основе полученных экспериментальных результатов, являются аргументированными и обоснованными. Данные рекомендации могут быть полезны врачам-гематологам, врачам клинической лабораторной диагностики и клеточным биотехнологам для прогноза риска развития и диагностики оРТПХ, а также для оптимизации выбора БМКП на основе МСК и персонификации клеточной терапии оРТПХ.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию

Научная значимость результатов диссертации заключается в определении дополнительных прогностических критериев оРТПХ у пациентов после аллотГСК (значение индекса стимуляции лимфоцитов донора выше 9,20, лимфоцитов донора и реципиента выше 11,55), а также лабораторных диагностических признаков оРТПХ (концентрация ИЛ-8 >5,56 пг/мл и ИЛ-21 >0,218 пг/мл в плазме крови). Полученные в диссертации результаты углубляют понимание механизмов реализации иммуномодулирующего действия МСК посредством высвобождения растворимых молекул sHLA-G и Gal-1. Научно значимым результатом работы является определение влияния индивидуальных иммунобиологических особенностей лимфоцитов пациентов с оРТПХ и донорских МСК на направленность иммуномодулирующего действия МСК, проявляющуюся перераспределением субпопуляций иммунокомпетентных клеток пациентов (Т-лимфоцитов, НК-клеток, Т-регуляторных клеток в популяции CD4⁺-клеток) при их совместном культивировании *in vitro*.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в

разработке методического подхода к подбору БМКП на основе МСК с использованием предварительной *in vitro* оценки влияния МСК на субпопуляционный состав лимфоцитов пациентов с оРТПХ (CD3⁺-лимфоцитов, CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов, CD8⁺HLA DR⁺-лимфоцитов, CD4⁺CD25⁺CD127⁻-лимфоцитов) на подложке из МСК по сравнению с интактными лимфоцитами. Применение данного метода позволяет достигнуть полного или частичного клинического ответа на клеточную терапию более чем в 80% случаев.

Результаты исследования внедрены в образовательный процесс и практическую работу МНПЦ ХТиГ (2 акта внедрения). Утверждена инструкция по применению «Методы медицинской профилактики и терапии реакции «трансплантат против хозяина» после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток» от 23.12.2022 г. рег. № 142-1222.

Социальная значимость результатов диссертационного исследования заключается в возможности улучшения качества оказания медицинской помощи в Республике Беларусь пациентам с оРТПХ с использованием персонализированного подхода к подбору БМКП на основе МСК.

Экономическая эффективность может быть обусловлена уменьшением количества используемых БМКП при предварительном подборе МСК и достижении клинического ответа при оРТПХ.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, 1 статья в иных рецензируемых научных журналах, 7 тезисов докладов в сборниках научных работ, материалов конференций, съездов, конгрессов, из них 5 – в зарубежной печати, 1 инструкция по применению. Общий объем опубликованных материалов – 4,62 авторских листа. Степень опубликованности основных результатов диссертационной работы и их апробация на республиканских и международных научных форумах являются достаточными.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Диссертация Примаковой Евгении Алексеевны «Обоснование выбора мезенхимальных стволовых клеток для применения при острой реакции «трансплантат против хозяина» на основе оценки их иммунобиологических характеристик» и автореферат оформлены в соответствии с требованиями п. п. 20, 21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь от 17.11.2004 г. № 560 и Инструкции о порядке оформления диссертации, диссертации в виде научного доклада, автореферата диссертации и публикаций по теме, утвержденной постановлением ВАК Республики Беларусь № 5 от 22.08.2022 г.

Диссертация изложена на 110 страницах машинописного текста, содержит 27 рисунков и 10 таблиц, состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, библиографического списка, включающего 159 источников (8 – на русском языке, 151 – на английском) и 14 собственных публикаций автора, 5 приложений.

Каждая из 3-х глав собственных исследований посвящена решению отдельной проблемы с логичным и последовательным изложением полученных результатов исследований, с использованием для их обсуждения необходимых литературных данных. Каждая из глав завершается разделом, содержащим основные выводы. Текст диссертации написан научным языком, материал излагается последовательно и логично. Обоснование выводов дано ясно и аргументированно.

Содержание автореферата корректно и достаточно полно отражает результаты диссертации.

Принципиальных замечаний по представлению собственных данных и оформлению диссертации нет. Диссертация написана грамотным литературным языком, имеются лишь единичные орфографические ошибки, опечатки, неточности.

В ходе ознакомления с диссертационной работой и анализа представленных экспериментальных данных возникли следующие вопросы:

1) Почему Вами была выбрана именно такая панель цитокинов (ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17А, ИЛ-21, TGF- β) для скрининга в плазме крови реципиентов аллоГСК. Нужно ли оценивать концентрацию ИЛ-8 и ИЛ-21 в динамике и в какие сроки?

2) В работе перечислены критерии, по которым МСК считаются подобранными (снижение CD3+, CD3+CD8+, CD3+CD8+HLA-DR+ и увеличение CD4+CD25+CD127-). Однако не указано, насколько выраженными должны быть эти изменения, чтобы принять решение. Существует ли минимальный порог эффективности (например, снижение CD8+ на 10%), ниже которого МСК не рекомендуется к применению?

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Содержание диссертации, научная и практическая значимость полученных результатов, поставленные цель и задачи, выполненные исследования с применением современных лабораторных методов, грамотный научный уровень обсуждения полученных результатов, достоверность выводов, качество оформления, стиль изложения, достаточная опубликованность и апробация результатов работы позволяют сделать вывод о том, что научная квалификация автора соответствует ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы.

Заключение

Диссертация Примаковой Евгении Алексеевны «Обоснование выбора мезенхимальных стволовых клеток для применения при острой реакции «трансплантат против хозяина» на основе оценки их иммунобиологических характеристик», представленная к защите в совет Д 03.03.01 на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы (отрасль – биологические науки), представляет собой завершённое квалификационное исследование, которое по уровню научной новизны и практической значимости полностью соответствует требованиям п. п. 20, 21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (Указ Президента Республики Беларусь от 17.11.2004 г. № 560 в редакции от 01.12.2011 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Ученая степень кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы может быть присуждена Примаковой Евгении Алексеевне за:

– установление дополнительных прогностических (индекс стимуляции лимфоцитов донора выше 9,20, а также лимфоцитов донора и реципиента в смешанной культуре выше 11,55 в день трансплантации ГСК) и диагностических критериев ОРТПХ (концентрация ИЛ-8 более 5,56 пг/мл и ИЛ-21 более 0,218 пг/мл в плазме крови);

– оценку влияния совместного культивирования лимфоцитов пациентов с ОРТПХ и МСК на продукцию растворимых иммунорегуляторных молекул sHLA-G и Gal-1 *in vitro*;

– выявление роли индивидуальных иммунобиологических особенностей лимфоцитов пациентов с ОРТПХ и донорских МСК в направленности и степени иммуномодулирующего действия последних, проявляющуюся перераспределением субпопуляций иммунокомпетентных клеток пациентов (Т-лимфоцитов, NK-клеток, Т-регуляторных клеток в популяции CD4⁺-клеток) при их совместном культивировании *in vitro*;

– разработку метода выбора МСК, основанного на предварительной *in vitro* оценке влияния МСК на субпопуляционный состав лимфоцитов пациентов с ОРТПХ (CD3⁺-лимфоцитов, CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов, CD8⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов, CD4⁺25⁺127⁻-лимфоцитов на подложке из МСК по сравнению с интактными лимфоцитами) и доказательство эффективности его применения.

Официальный оппонент:

заведующий клинико-диагностической лабораторией РНПЦ ОМР

им. Н.Н. Александрова,

доктор биологических наук, профессор

Л.А. Державец

«21» 05 2026 г.

Подпись
удостоверяю



Специалист по кадрам

Л.А. Державец