

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Чельшевой Екатерины Юрьевны на диссертацию Александровой Туйары Никоновны на тему «Цитокиновый статус больных хроническим миелолейкозом в различные фазы заболевания», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Александровой Туйары Никоновны посвящена решению актуальной научной задачи – комплексному анализу состояния цитокинового статуса и белков-регуляторов клеточного цикла у пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ).

Внедрение в клиническую практику таргетной терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) в течение последних двух десятилетий позволило кардинально улучшить прогноз при ХМЛ. При достижении оптимального ответа на лечение, под которым подразумевается большой молекулярный ответ (БМО), показатели общей выживаемости у пациентов с ХМЛ сопоставимы с общепопуляционными. Длительная терапия ИТК может быть сопряжена с развитием отдаленных нежелательных явлений, ухудшающих качество жизни больных. Однако у части пациентов (до 50-60% после 5 лет терапии) достигается глубокий молекулярный ответ (МО), при котором возможна безопасная отмена таргетной терапии, и у 40-60% пациентов может быть продолжено наблюдение в ремиссии без лечения (РБЛ), при условии обязательного мониторинга уровня экспрессии *BCR::ABL1*.

Вопрос об эрадикации лейкемического клона у больных ХМЛ на фоне терапии ИТК остается открытым. По данным многочисленных исследований установлено, что ИТК не способны воздействовать на покоящиеся лейкемические стволовые клетки (ЛСК), которые могут являться причиной развития рецидива после отмены терапии. Биологические факторы, лежащие в основе персистирования остаточных ЛСК у больных ХМЛ, являются предметом активного изучения. В связи с этим оценка влияния факторов

опухолевого микроокружения, в том числе цитокинов, на опухолевую прогрессию при ХМЛ, безусловно является актуальным и важным вопросом.

Помимо персистирования остаточных ЛСК и невозможности отмены терапии даже при длительно существующей глубоком МО, значительную проблему у больных ХМЛ представляют резистентные формы заболевания, при которых не достигается оптимальный ответ на лечение и может развиваться прогрессия до продвинутых фаз заболевания - фазы акселерации (ФА) и бластного криза (БК). Хроническое повреждение ДНК активными формами кислорода, продуцируемыми опухолью, приводит к изменению экспрессии онкогенов, нарушению синтеза ростовых факторов. Ингибирование активности онкосупрессорного белка p53 в совокупности с персистирующей аберрантной секрецией провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, регулирующих множество сигнальных путей, может привести к изменению соотношения между процессами пролиферации и апоптоза опухолевых клеток и накоплению клона клеток, резистентных к лекарственной терапии. Определение функциональных характеристик цитокинов принимающих участие в этих сложных взаимодействиях, включающих в себя как активацию противоопухолевого иммунитета, так и цитокинов, синтезируемых самими опухолевыми клетками, является актуальной задачей для понимания патогенеза опухолевой прогрессии при ХМЛ. Однако исследования, изучавшие роль цитокинового дисбаланса в канцерогенезе, развитии резистентности к лекарственной терапии у данной категории пациентов, немногочисленны.

Таким образом, диссертационная работа Александровой Т. Н., посвященная изучению особенностей цитокинового статуса больных ХМЛ в различные фазы заболевания, а также выявлению взаимосвязи данных показателей с клинико-лабораторными проявлениями, выраженностью экспрессии основных регуляторных молекул и эффективностью терапии, является крайне актуальной.

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

Достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций определяется соответствием дизайна цели и задачам исследования, репрезентативным клиническим материалом, применением современных методов лабораторных исследований и статистического анализа.

Диссертационная работа выполнена на достаточном объеме клинического материала, необходимом для получения статистически значимых результатов. Достоинством работы является включение в исследование пациентов как с впервые диагностированным заболеванием, так и получающих терапию разным препаратами ИТК, что позволило автору выделить особенности цитокинового статуса больных ХМЛ в различных клинических ситуациях.

Методы исследования (клинические, лабораторные) современны и соответствуют поставленным целям и задачам. В работе с помощью иммуноферментного анализа изучены концентрации широкого спектра провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α и VEGF-A), а с помощью иммуноцитохимического метода определены уровни экспрессии на клетках костного мозга маркеров Ki-67, c-Myc, p53, каспазы 3 и белка множественной лекарственной устойчивости p-гликопротеина.

В диссертационной работе грамотно использован статистический анализ. Наряду с традиционными методами сравнительного, корреляционного анализов, использованы методы логистической регрессии и ROC-анализа, позволившие ранжировать факторы риска неэффективности терапии ИТК у больных ХМЛ и определить пороговые значения для биомаркеров, связанных с отсутствием БМО.

Положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации соответствуют поставленным задачам, научно обоснованы и

логично вытекают из полученных результатов, основаны на убедительных статистических данных.

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 5 статей в журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, на соискание ученой степени доктора медицинских наук, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus, Web of Science. Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на Российских научно-практических конференциях и конгрессах. Таким образом, материалы диссертации достаточно полно представлены в публикациях и докладах.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Впервые у больных ХМЛ проведено комплексное изучение взаимосвязи между цитокиновым статусом и уровнем экспрессии в костном мозге регуляторных белков клеточного цикла, оказывающими влияние на особенности клинического течения заболевания и эффективность терапии. Автором выявлены особенности секреции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на различных этапах эволюции ХМЛ, которые, в первую очередь, связаны со значительной опухолевой массой – включая уровень лейкоцитов, лактатдегидрогеназы и размеры селезенки.

По результатам диссертационной работы впервые доказано, что даже при достижении глубокого МО на фоне длительной терапии ИТК у больных ХМЛ сохраняется гиперсекреция отдельных цитокинов, а именно TNF- α , IL-6, IL-18, IL-10, IFN- α и IL-17.

Несомненной заслугой автора является изучение влияния разных препаратов ИТК на цитокин-продуцирующую способность клеток, что может иметь практическое значение при подборе терапии у больных с выраженными конституциональными симптомами. Так, результаты

проведенного анализа позволили выявить относительно больший потенциал иматиниба в торможении синтеза ключевого провоспалительного TNF- α по сравнению с дазатинибом.

Автором впервые у больных ХМЛ выявлена прямая взаимосвязь между высокой сывороточной концентрацией провоспалительных цитокинов и низким уровнем экспрессии в костном мозге транскрипционных факторов p53 и c-Мус, а также гиперэкспрессией белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина, оказывающая неблагоприятное влияние на эффективность терапии ИТК. Доказано, что дисбаланс в сторону повышения концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17), сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-A и снижения концентрации противовоспалительного цитокина IL-10 сопряжен с риском недостижения БМО.

Важным результатом работы стало определение автором пороговых значений концентраций цитокинов в сыворотке крови и уровня экспрессии регуляторных белков в костном мозге, позволяющее прогнозировать эффективность терапии ИТК. Установлено, что наиболее значимыми предикторами достижения БМО у больных ХМЛ являются концентрация IL-1 β менее 2,5 пг/мл, IL-17 менее 2,6 пг/мл, а также уровень экспрессии на клетках костного мозга белка p53 более 4% и c-тус более 6%.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты диссертационной работы Т. Н. Александровой имеют несомненную теоретическую и практическую значимость. Теоретическая значимость заключается в изучении влияния концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на уровень экспрессии основных транскрипционных факторов и белков, регулирующих пролиферативную активность, апоптоз опухолевых клеток, а также метаболизм лекарственных препаратов, что расширяет понимание молекулярных основ патогенеза ХМЛ, отражающихся в особенностях клинического течения заболевания. По результатам работы выявлены

особенности цитокинового статуса больных ХМЛ в зависимости от фазы заболевания, длительности наблюдения и эффективности терапии, что имеет важное практическое значение.

Важным итогом являются выявленные автором предикторы неблагоприятного течения ХМЛ и вероятности достижения БМО на терапии ИТК. Определение концентрации IL-1 β и IL-17 методом иммуноферментного анализа расширяет возможности персонализированного подхода к мониторингу эффективности терапии ИТК, а также может стать основой для исследований, изучающих влияние факторов опухолевого микроокружения на сохранение РБЛ.

Результаты проведенного исследования используются в научной и педагогической работе на кафедре терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России и внедрены в клиническую практику гематологических отделений ГБУЗ НСО «Городская больница №2» и «Новосибирская областная клиническая больница» и ГАУ РС(Я) «Республиканская больница №1 – Национальный центр медицины им. М. Е. Николаева».

Оценка содержания диссертации

Диссертация Александровой Т. Н. построена классическим образом. Цель и задачи сформулированы понятно и отражают основную идею диссертационной работы. Диссертация изложена на 145 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 19 таблицами, 7 рисунками и состоит из введения, обзора литературы, глав материала и методов исследований, собственных результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Перечень использованных литературных источников включает 216 работ, из которых 203 в зарубежных изданиях.

Во введении автор обосновывает выбор темы исследования с

подробным анализом актуальных проблем терапии больных ХМЛ, акцентируя внимание на отсутствии единого понимания роли цитокинов в патогенезе заболевания и перспективах их применения в качестве прогностических маркеров и терапевтических мишеней для улучшения результатов лечения.

Обзор литературы посвящен изучению современных представлений о молекулярных основах и принципах терапии ХМЛ, а также роли различных цитокинов в канцерогенезе и регуляции клеточного цикла опухолевых клеток. Поскольку цитокины являются медиаторами сложных взаимодействий между иммунной системой организма и опухолевым клоном, их клинико-прогностическое значение активно изучается при различных злокачественных новообразованиях. В обзоре подробно рассматриваются функциональные особенности ЛСК, причины развития резистентности к ИТК и прогрессирования заболевания. Автором проведен глубокий анализ литературных источников по теме диссертации, включая актуальные данные зарубежных и отечественных публикаций последних лет.

Во второй главе четко описан дизайн исследования, дана подробная характеристика включенных в исследование пациентов и использованных лабораторных методов. Отмечено, что клиническо-диагностическое обследование пациентов с ХМЛ проводилось согласно Российским клиническим рекомендациям. Для решения поставленных задач автором использованы специальные методы исследования, включая иммуноферментный и иммуноцитохимический анализ цитологических мазков костного мозга. Методы статистического анализа охарактеризованы исчерпывающе и ясно.

В третьей главе, которая состоит из шести разделов, автор последовательно излагает результаты изучения концентраций цитокинов в зависимости от фазы ХМЛ, особенностей клинико-лабораторных проявлений заболевания и эффективности терапии.

Выявлена прямая корреляция уровня экспрессии химерного гена *BCR::ABL1* (который является основным маркером опухолевого клона при ХМЛ) с концентрацией ряда провоспалительных цитокинов. Однако при этом отмечен интересный факт: несмотря на уменьшение концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови пациентов по мере проведения терапии ИТК, цитокиновый дисбаланс у больных ХМЛ сохраняется, что было подтверждено достоверными различиями с показателями здоровых лиц. Ряд различий цитокинового профиля с условно здоровыми лицами сохраняется даже у пациентов с глубоким молекулярным ответом, что может свидетельствовать о вкладе опухолевого микроокружения в поддержание популяции остаточного лейкозного клона.

Автор скрупулезно анализирует и описывает в работе сопряженность показателей цитокинового профиля с различными клиническими и лабораторными параметрами больных ХМЛ, отражающими объем опухолевой массы, включая уровень лейкоцитов, отдельные показатели гемограммы (базофилия, бластоз) размеры селезенки и выявляет ряд важных закономерностей по корреляции концентрации провоспалительных и противоопухолевых цитокинов с указанными параметрами. Представляют интерес выявленные достоверные различия уровня $\text{TNF-}\alpha$ и $\text{IFN-}\alpha$ при применении ИТК первого и второго поколения, что позволяет предположить наличие разного спектра противоопухолевых эффектов, характерных для каждого препарата, которые имеют разный спектр молекулярных мишеней,

По результатам проведенного анализа автором определены факторы, влияющие на вероятность достижения БМО, а также установлены пороговые значения концентраций цитокинов, позволяющие прогнозировать эффективность таргетной терапии.

Кроме того, автором изучены и описаны особенности экспрессии в костном мозге больных ХМЛ белков, регулирующих пролиферацию (Ki-67, c-Мус), апоптоз (p53 и каспаза 3) и множественную лекарственную

устойчивость (p-гликопротеин), а также их взаимосвязь с цитокиновым статусом. Отмечено, что уровень экспрессии белка p53 является наиболее значимым предиктором неэффективности терапии ИТК.

Четвертая глава содержит обсуждение, где автором суммирован и проанализирован собственный материал в сопоставлении с данными современной отечественной и зарубежной литературы. Представленные данные и их обсуждение логично приводят к заключению, которое представляет собой обоснованное подведение итогов исследования.

Выводы следуют из основных положений диссертации и соответствуют поставленным задачам, практические рекомендации аргументированы.

Диссертация написана доступным литературным языком, грамотно оформлена.

Соответствие содержания автореферата основным идеям и выводам диссертации

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации, оформлен в соответствии с требованиями п.25 Положения о присуждении ученых степеней. Принципиальных замечаний к работе нет.

Заключение

Диссертация Александровой Туйары Никоновны на тему «Цитокиновый статус больных хроническим миелолейкозом в различные фазы заболевания», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови, является законченной научно-квалификационной работой, по результатам которой решена новая научная задача – изучены концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных ХМЛ в различные фазы заболевания, выявлена связь данных показателей с клинико-лабораторными проявлениями, выраженностью экспрессии основных регуляторных молекул и эффективностью терапии ХМЛ. По своей актуальности, методическому

уровню, объему исследований, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Т. Н. Александровой, выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Т. И. Поспеловой, полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник клинико-диагностического отделения гематологии миелопролиферативных заболеваний Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук (шифр специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови), Челышева Екатерина Юрьевна

Подпись доктора медицинских наук Челышевой Екатерины Юрьевны заверяю, Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидат медицинских наук, Джулакян Унан Левонович

« 7 » декабря 2023 г.



Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4

Тел.: 8 495 612 4551

E-mail: director@blood.ru

Официальный сайт: <https://blood.ru/>