

## Отзыв

на автореферат диссертации Почтаря Евгения Владимировича «Экспрессия В-клеточных маркеров ROR-1, CD180 и значение субпопуляций Т-лимфоцитов и натуральных киллеров в оценке течения хронического лимфолейкоза», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

Работа Почтаря Евгения Владимировича посвящена важной проблеме поиска новых диагностических маркеров, которые остаются стабильными в ходе лечения пациентов с хроническим лимфолейкозом и могут быть использованы для оценки минимальной остаточной болезни, а также изучению субпопуляционного состава Т-, НК-клеток и моноцитов, что позволит усовершенствовать оценку иммунного статуса пациентов до начала иммунохимиотерапии и таргетной терапии и в динамике ее проведения.

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – это самый частый вид лейкоза у взрослых. У большинства пациентов с ХЛЛ современная терапия приводит к достижению клинической ремиссии, при которой остаточную опухоль невозможно определить инструментальными методами, а также цитологическим и гистологическим исследованием. В течение последних 15 лет активно внедряются в практику различные методы оценки минимальной остаточной болезни (МОБ) при ХЛЛ. В настоящее время можно выделить 2 методических направления для оценки МОБ: иммунофенотипическое и молекулярно-генетическое. Нижний предел чувствительности высокопроизводительного секвенирования  $10^{-6}$ , однако у данного метода есть свои ограничения, в том числе высокая стоимость и отсутствие валидации в клинических исследованиях. Метод многоцветной проточной цитометрии более распространен для оценки МОБ, появление новых флуорохромов позволило повысить чувствительность метода до  $10^{-5}$ , а дальнейшее усовершенствование метода позволяет приблизиться к чувствительности высокопроизводительного секвенирования.

Активное внедрение в практику таргетных препаратов для лечения ХЛЛ приводит к изменению экспрессии отдельных антигенов на поверхности В-лимфоцитов и требует поиска новых маркеров, которые будут стабильны на фоне проводимой терапии. Обнаружение таких маркеров позволит эффективно использовать метод проточной цитометрии для оценки МОБ.

Большинство режимов терапии ХЛЛ не безопасны. Например, флударабин-содержащие схемы ведут к тяжелым инфекционным осложнениям и являются миелотоксичными. В связи с этим представляется важным оценить состояние клеточного иммунитета у пациентов до начала терапии и в ходе проведения лечения.

Таким образом, работа Почтаря Е.В. посвящена актуальной теме поиска новых маркеров для оценки МОБ методом иммунофенотипирования и изучению клеточного и неспецифического звена иммунитета до начала терапии и в период иммунохимиотерапии.

В исследованиях, проведенных автором показано, что экспрессия маркера ROR-1 определяется на 100,0% опухолевых В-лимфоцитов, в то время как экспрессия маркера CD180 варьиабельна и выявлялась в 52% случаев ХЛЛ. Оценка стабильности экспрессии

ROR-1 на фоне проводимой терапии, показала, что она не изменяется и может использоваться в оценке минимальной остаточной болезни.

Сравнение двух подходов в иммунофенотипической оценке МОБ при ХЛЛ – стандартизированного и набора, включающего ROR-1, показало их высокую корреляцию ( $r=0,9936$ .) Использование маркера ROR-1 для оценки МОБ ХЛЛ упрощает проведение иммунофенотипического исследования, позволяет отказаться от оценки клональности В-лимфоцитов по рестрикции легких цепей, что делает возможным рекомендовать данный метод для рутинной практики в клинико-диагностических лабораториях медицинских организаций.

Кроме того, автором изучен субпопуляционный состав Т-лимфоцитов, натуральных киллеров и моноцитов и впервые показано изменение субпопуляционного состава Т-лимфоцитов и НК-клеток в дебюте заболевания и в ходе лечения различными схемами терапии. Впервые изучен субпопуляционный состав моноцитов крови у пациентов ХЛЛ и доказано значение использования абсолютных показателей в интерпретации результатов, которые были сравнимы с таковыми у доноров.

Изучая субпопуляционный состав Т-лимфоцитов, натуральных киллеров, были установлены особенности субпопуляционного состава Т-лимфоцитов и НК клеток. Например, у пациентов с первично выявленным ХЛЛ по сравнению с контролем отмечается достоверное увеличение абсолютного числа Т-лимфоцитов ( $p<0,0001$ ), Т-хелперов ( $p<0,0001$ ) за счет Т-хелперов памяти ( $p<0,0001$ ), цитотоксических Т-клеток ( $p<0,0001$ ), активированных Т-лимфоцитов с маркерами ранней ( $p<0,0001$ ) и поздней активации ( $p<0,0001$ ), значительное увеличение абсолютного числа регуляторных Т-лимфоцитов ( $p=0,0109$ ), субпопуляции TCR $\gamma\delta$ -Т-клеток ( $p=0,0003$ ) и НК-клеток ( $p<0,0001$ ). В ходе исследования автором показано, что у пациентов, находящихся на терапии ибрутинибом, отмечалось снижение количества активированных Т-лимфоцитов ( $p<0,0001$ ), наивных Т-хелперов, TCR $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, а также В-лимфоцитов ( $p<0,0001$ ). Проанализированные автором изменения абсолютного числа регуляторных Т-клеток показали значительное их снижение при использовании в терапии ХЛЛ ибрутиниба, что является показателем восстановления иммунологического дисбаланса.

Впервые изучен субпопуляционный состав моноцитов крови у пациентов ХЛЛ и доказано значение использования абсолютных показателей в интерпретации результатов. Автором показано, что у пациентов отмечалось снижение относительного числа классических моноцитов (МО1) и увеличение неклассических моноцитов (МО3) у пациентов ХЛЛ, находящихся на терапии, не содержащей ибрутиниб, по сравнению с контролем и другими группами пациентов ХЛЛ ( $p=0,0003$ ,  $p=0,0019$ ,  $p=0,017$  и  $p=0,0025$ , соответственно и  $p=0,0026$ ,  $p<0,0001$ ,  $p=0,0002$  и  $p=0,0001$ , соответственно), а также увеличение процента промежуточных форм моноцитов (МО2) во всех исследуемых группах по отношению к донорам ( $p=0,0234$ ,  $p=0,0051$ ,  $p=0,0061$  и  $p=0,0332$ , соответственно). Однако, анализ абсолютных значений субпопуляций моноцитов периферической крови при ХЛЛ не выявил достоверных различий с контрольной группой и между анализируемыми подгруппами пациентов.

Обоснованность и достоверность полученных результатов исследований определяется достаточным объемом выборок исследований, а также использованием современных методов исследования. Сформулированные в работе выводы, положения и рекомендации аргументированы и логически вытекают из анализа значительного объема

обследованных пациентов и результатов выполненных исследований. Достоверность работы подтверждается публикацией ее результатов в рецензируемых научных изданиях. По материалам диссертационного исследования опубликовано 10 научных работ, из них 3 в журналах, которые внесены в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации. Основные положения диссертации доложены на нескольких ежегодных конгрессах лабораторной медицины, на Российской научно-практической конференции с международным участием, на международном симпозиуме, посвященном техническим инновациям в области лабораторной гематологии.

В целом, по представленному автореферату замечаний нет.

Научная и практическая ценность данной работы соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. от 18 марта 2023 г. №415), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а Почтарь Евгений Владимирович, достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки).

Заведующий лабораторией клинической иммунологии и инновационных технологий  
Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор биологических наук

 Т. Н. Заботина

Дата «19» января 2024 г.

Подпись д.б.н. Т.Н. Заботиной заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, к.м.н.



И. Ю. Кубасова

Адрес: ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России  
115522, Россия, г. Москва, Каширское ш., д.24  
Тел. +7 (499) 444-24-24  
E-mail: info@ronc.ru, TNZ@ronc.ru