

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой
Д.м.н., профессор А.М. Лиля
« 29 » _____ 2018 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по первичной экспертизе диссертации

Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой»

Диссертация «Динамика субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с системной красной волчанкой на фоне терапии генно-инженерными биологическими препаратами» выполнена в лаборатории интенсивных методов терапии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А.Насоновой», 115522, г.Москва, Каширское шоссе, д.34А.

В период подготовки диссертации соискатель Меснянкина Анна Александровна работала в лаборатории интенсивных методов терапии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А.Насоновой» в должности младшего научного сотрудника.

В 2011 г. окончила обучение в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по специальности «лечебное дело».

В 2018 г. окончила академическую очную аспирантуру по специальности «ревматология» при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А.Насоновой».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано 07.12.2016 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А.Насоновой».

Научный руководитель: Соловьев Сергей Константинович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией интенсивных методов терапии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А.Насоновой».

По итогам обсуждения принято следующее решение:

Диссертационная работа Меснянкиной Анны Александровны «Динамика субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с системной красной волчанкой на фоне терапии генно-инженерными биологическими препаратами» выполнена по специальности «ревматология» и входила в план научно-исследовательской работы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А.Насоновой», тема №377 «Регистр пациентов с системной красной волчанкой РЕНЕССАНС» (государственный регистрационный номер №АААА-А-18-118022020012-7). Получено одобрение локального Комитета по этике в отношении возможности проведения исследования (протокол №02 от 21 января 2016 г.).

Основные положения и выводы диссертации основаны на материалах первичной документации и полностью им соответствуют.

Работа посвящена изучению исходного содержания субпопуляций В-лимфоцитов и их динамике у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) на фоне терапии генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП). В исследование были включены 75 больных с достоверным диагнозом СКВ с преимущественно высокой степенью активности заболевания (78%). Из них 70 женщин и 5 мужчин. Возраст больных соответствовал Me 33 [25–40] годам, длительность заболевания — от 2 месяцев до 38 лет. Группа контроля представляла 20 здоровых доноров, сопоставимых по возрасту и полу. Длительность наблюдения составляла 12 мес., в течение которых было осуществлено 4 контрольных визита. Исходно и при каждом визите проводилась оценка активности заболевания, стандартное обследование, принятое при ведении пациентов с СКВ. До введения ГИБП и при каждом визите осуществлялся забор крови для определения процентного и абсолютного содержания субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови. Чаще всего наблюдались такие клинические проявления СКВ, как поражение суставов ($n=33$, 44%), кожи ($n=29$, 39%), почек ($n=27$, 36%). Высокая иммунологическая активность наблюдалась у большинства пациентов.

К моменту включения в исследование всем пациентам назначались глюкокортикоиды, половина больных получала иммуносупрессивную терапию. По показаниям 18 пациентам проводилась трехдневная пульс-терапия метилпреднизолоном. 10 пациентов до включения в исследование получали ритуксимаб (РТМ) более, чем за год до момента включения их в исследование. Оценка исходных данных была осуществлена у 75 пациентов с СКВ, в динамике прослежены 64 пациента. Из них РТМ получали 47 пациентов в дозе от 500 до 2000 мг. При повторных визитах 21 пациенту повторно вводили РТМ в дозе от 500 до 1000 мг. 10 больным назначался белимуаб (БЛМ) в дозе 10 мг/кг массы тела. 7 пациентов получали комбинированную терапию РТМ и БЛМ. Им вводился РТМ в дозе 500 (2

больных) или 1000 мг (5 больных), а через 3 мес. назначался БЛМ по схеме 10 мг/кг 1 раз в мес. в течение 8 мес.

Изучение гомеостаза субпопуляций В-лимфоцитов у больных СКВ позволило установить, что количественное распределение различных популяций В-клеток отличается от здоровых доноров, а также зависит от активности, длительности, клинико-иммунологических параметров СКВ. Оценка динамики субпопуляций В-лимфоцитов на фоне терапии ГИБП способствовала выявлению возможных предикторов эффективности проводимого лечения.

При оценке исходного содержания субпопуляций В-лимфоцитов было отмечено, низкое количество переключенных ($p < 0,0006$) и высокое количество двойных негативных (ДН) В-клеток памяти ($p < 0,04$) и плазмобластов (ПБ) ($p < 0,04$) у больных СКВ при сравнении со здоровыми донорами. Было выявлено, что в дебюте СКВ преобладали непереключенные клетки памяти ($p < 0,01$) и общая популяция В-лимфоцитов памяти ($p < 0,04$); а при высокой активности СКВ (SLEDAI-2K > 10 баллов) определяется повышенная процентная доля ДН В-клеток ($p < 0,015$) и низкое значение наивных В-лимфоцитов ($p < 0,0018$) по сравнению со средней степенью активности. Отмечена ассоциация между наличием активного ВН и количеством ДН В-клеток памяти ($r = 0,72$, $p < 0,05$), плазматических клеток (ПК) ($r = 0,52$, $p < 0,05$) и наивных В-лимфоцитов ($r = -0,71$, $p < 0,05$).

По результатам работы было отмечено, что более низкое процентное содержание непереключенных В-лимфоцитов памяти определялось у пациентов с низким титром АНФ ($p < 0,02$), повышенное содержание переключенных В-клеток памяти при низких значениях антител к дсДНК ($p < 0,014$), а низкий уровень С4 компонента комплемента при высоком количестве ПБ ($> 0,0002 \times 10^9/\text{л}$, $p < 0,00087$).

При динамическом наблюдении среди пациентов, получавших РТМ, замечено, что неполная деплеция В-лимфоцитов отмечалась при повышенном базальном количестве ПК (более 0,2%). Резидуальными клетками являлись наивные В-клетки и различные субпопуляции В-клеток памяти. Начало репопуляции В-клеток после терапии РТМ характеризовалось нарастанием непереключенных и переключенных В-клеток памяти. Однако через год наблюдения выявлялось более низкое процентное количество переключенных В-клеток памяти ($p < 0,035$) и общей популяции В-клеток памяти ($p < 0,000012$) при сравнении с базальными данными.

Согласно полученным данным, терапия БЛМ способствовала снижению клинико-лабораторной активности заболевания к 3-му месяцу наблюдения, а иммунологических показателей, начиная с 6-го месяца после инициации генно-инженерного биологического препарата, в то же время было зарегистрировано уменьшение количества ПК и ПБ. БЛМ может оказывать влияние на общее содержание CD19⁺ В-лимфоцитов и количество наивных В-лимфоцитов.

Применение комбинированной терапии приводило к более медленной репопуляции В-лимфоцитов, способствовало торможению роста числа ПК и ПБ, поддержанию низких концентраций общей популяции В-клеток памяти и наивных В-лимфоцитов. Наблюдалась тенденция к снижению клинико-лабораторной активности СКВ.

Конкретное участие автора в получении научных результатов.

Диссертантом освоена методика организации и проведения клинических исследований лекарственных средств, получен сертификат о повышении квалификации, также пройдено обучение по программе «Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматических заболеваний», получен сертификат о повышении квалификации. Автор освоила метод оценки активности СКВ (SLEDAI-2K и BILAG), индекса повреждения, изучила методику проведения иммунофенотипирования В-лимфоцитов периферической крови методом многоцветной проточной цитофлуорометрии.

Автором изучена и проанализирована литература по теме работы. Основные положения представлены в опубликованном литературном обзоре. На основе проведенного анализа сформулированы цели и задачи настоящего исследования, определены основные этапы контроля и объем обследований. Была разработана тематическая карта пациента для первичного и повторного визитов, а также электронная база данных. Автор осуществлял ведение пациентов с СКВ в стационаре и при динамическом наблюдении. Результаты обследования внесены в локальную электронную базу, а также в базу данных VLIPS межнационального регистра пациентов с СКВ Евразийской когорты (РЕНЕССАНС), заполнена первичная документация и тематические карты пациентов. Диссертантом проводился статистический анализ результатов наблюдения, на основе которого сформулированы выводы исследования, определены практические рекомендации.

Научная новизна исследования.

Впервые в РФ проведено динамическое исследование субпопуляций В-лимфоцитов у больных СКВ с использованием высокотехнологического метода многоцветной проточной цитофлуорометрии.

Выявлено, что процентное соотношение субпопуляций В-лимфоцитов при СКВ и у здоровых доноров различно. Существует взаимосвязь между количеством В-клеток различных субпопуляций с активностью и длительностью СКВ, предшествующей терапией, наличием волчаночного нефрита (ВН) и параметрами иммунологической активности. Оценка динамики субпопуляций В-лимфоцитов на фоне терапии ГИБП позволяет выделить возможные предикторы эффективности проводимого лечения.

Оценка эффективности комбинированной терапии РТМ и БЛМ у больных СКВ продемонстрировала хорошую клиническую эффективность. Применение двух ГИБП позволило контролировать общую популяцию В-лимфоцитов, способствовало более медленному их восстановлению у

пациентов, которые достигли полной деплеции после курса РТМ, и дальнейшему сокращению В-клеток после подключения БЛМ у больных с отсутствием деплеции. Такая терапия поддерживала в низких концентрациях плазмобласты, плазматические клетки, общую популяцию В-клеток памяти и наивные В-лимфоциты.

Практическая значимость исследования.

Полученные данные могут использоваться для дальнейших исследований роли субпопуляций В-лимфоцитов при СКВ. Выявление низкого исходного количества переключенных и высокого количества двойных негативных В-клеток памяти и плазмобластов у пациентов с подозрением на СКВ может способствовать более ранней диагностике этого заболевания. Дополнительным критерием высокой активности СКВ может служить высокая процентная доля двойных негативных В-клеток памяти при низком количестве наивных В-лимфоцитов.

Высокое содержание ПК (>0,2%) в периферической крови у больных СКВ может быть предиктором неполной В-клеточной деплеции после курса РТМ. Дополняющие друг друга механизмы действия РТМ и БЛМ, приводящие к быстрому развитию деплеции В-лимфоцитов и поддержанию ее на низком уровне в течение длительного времени, обеспечивают высокую эффективность комбинированной терапии и обосновывают ее назначение больным СКВ с высокой и средней степенью активности заболевания.

Внедрение в практику.

Определение субпопуляций В-лимфоцитов внедрено и используется в клинике ФГБНУ НИИР им. В.А.Насоновой для оценки активности и прогнозирования эффективности терапии ритуксимабом у больных с системной красной волчанкой. Материалы диссертации используются при чтении лекций, проведении круглых столов и практических занятий для врачей и ординаторов.

Апробация работы.

Результаты диссертационного исследования были доложены на школе «Перспективы развития ревматологии — вклад молодых ученых» (Москва, 2015), I Междисциплинарной научной конференции «Аутоиммунные и иммунодефицитные заболевания» (Москва, 2016), научной конференции молодых ученых «Молодое поколение ревматологов в науке» (Москва, 2016), заседании ревматологической секции научного общества терапевтов (Москва, 2017), VII Съезде ревматологов России с международным участием (Москва, 2017), на XXI форуме «Национальные дни лабораторной медицины России» (Москва, 2017), XVII Всероссийской школе ревматологов им. В. А. Насоновой с конференцией молодых ученых и совещанием экспертов-ревматологов (Москва, 2018).

Степень достоверности результатов проведенного исследования.

Основные положения и выводы диссертации основаны на материалах первичной документации и полностью им соответствуют. Обоснованности и достоверности результатов диссертационной работы обусловлена достаточным клиническим материалом, использованием современных инструментальных и лабораторных методов обследования, тщательным анализом полученных данных с применением современных методов статистической обработки.

Полнота изложения материалов диссертации в публикациях

Основные положения и выводы диссертации изложены в 10 публикациях, в том числе в 5 статьях в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикаций основных результатов диссертационных исследований.

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, указанных в перечне ВАК при Минобрнауки России

1. Двойная терапия генно-инженерными биологическими препаратами у пациентов с системной красной волчанкой / А. А. Меснянкина, С. К. Соловьев, Е. Н. Александрова, А. П. Алексанкин, Е. А. Асеева, Е. Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. — 2016. — Т. 54. — № 3. — С. 281–288.
2. Динамика субпопуляции В-лимфоцитов у больных системной красной волчанкой на фоне терапии генно-инженерными биологическими препаратами / А. А. Меснянкина, С. К. Соловьев, Е. Н. Александрова, А. П. Алексанкин, Е. В. Супоницкая, А. В. Елонаков, Е. А. Асеева, Е. Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. — 2017. — Т. 55. — № 3. — С. 252–260.
3. Клеточные и молекулярные биомаркеры и потенциальные терапевтические мишени при системной красной волчанке / А. А. Меснянкина // Научно-практическая ревматология. — 2016. — Т. 54. — № 2. — С. 206–218.
4. Результаты наблюдательного проспективного исследования эффективности и безопасности белимуаба (Бенлисты®) при системной красной волчанке в реальной клинической практике / А. Е. Асеева, С. К. Соловьев, А. А. Меснянкина, Т. М. Решетняк, Н. Е. Лопатина, С. И. Глухова, Е. Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. — 2016. — Т. 54. — № 1. — С. 31–37.
5. Эффективность генно-инженерной биологической терапии и особенности гуморального иммунитета у больных системной красной волчанкой / А. А. Меснянкина, С. К. Соловьев, Е. А. Асеева, Е. Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. — 2018. — Т. 56. — № 3. — С. 302–309.

Другие публикации

6. Взаимосвязь между повышенным уровнем субпопуляций двойных негативных В-лимфоцитов и активностью системной красной волчанки / Е. В. Супоницкая, А. П. Алексанкин, А. А. Меснянкина, Т. А. Панафидина, С. К. Соловьев, Е. Н. Александрова, Е. Л. Насонов // Вопросы организации и информатизации здравоохранения. — Прил. Материалы III Евраз. конгресса ревматологов. — 2016. — С. 344-345.

7. Влияние генно-инженерной биологической терапии на субпопуляции В-лимфоцитов больных системной красной волчанкой / А. А. Меснянкина, Е. Н. Александрова, С. К. Соловьев, А. П. Алексанкин, Е. А. Асеева, Е. Л. Насонов // Медицинский алфавит. — 2017. — № 26. — С. 43-44.

8. A rituximab and belimumab combination therapy in SLE patients / A.A. Mesnyan-kina, S.K. Soloviev, E.N. Aleksandrova, A.P. Aleksankin, A.A. Novikov, E.A. Aseeva, E.L. Na-sonov. — Annals of the Rheumatic Diseases. — 2018. — Vol. 77. — Suppl. — P. A693.

9. B-cell subpopulation dynamics in SLE patients following rituximab therapy / A. Mesnyankina, E. Aleksandrova, S. Soloviev, E. Suponitskaya, A. Aleksankin, A. Novikov, E. Aseeva, E. Nasonov // Annals of the Rheumatic Diseases. — 2017. — Vol. 76. — Suppl. 2. — P. 861.

10. Dynamics of B lymphocyte subsets in SLE patients treated with rituximab / A. Mesnyankina, E. Aleksandrova, S. Soloviev, A. Aleksankin, S. Glukhova, A. Novikov, E. Suponitskaya, E. Aseeva, E. Nasonov // Annals of the Rheumatic Diseases. — 2016. — Vol. 75. — Suppl. 2. — P. 289.

Заключение

По актуальности темы, объему проведенных исследований, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 «О порядке присуждения ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация Меснянкиной Анны Александровны «Динамика субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с системной красной волчанкой на фоне терапии генно-инженерными биологическими препаратами» является законченной научно-квалификационной работой и представляет большую ценность для ревматологии. Диссертационное исследование основано на собственных данных и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Диссертация Меснянкиной Анны Александровны «Динамика субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с системной красной волчанкой на фоне терапии генно-инженерными биологическими препаратами» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.22 – ревматология.

Заключение принято на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А.Насоновой». На заседании из 40 членов Ученого совета присутствовало 26 человек. Результаты голосования: «за» - 26, «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол №19 от 4 сентября 2018 г.

Секретарь:



д.м.н. В.Н.Амирджанова