

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, члена-корреспондента РАН Алексеевой Екатерины Иосифовны на диссертационную работу Меснянкиной Анны Александровны «Динамика субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с системной красной волчанкой на фоне терапии генно-инженерными биологическими препаратами», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук на диссертационном совете Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно – исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой» (ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой) по специальности 14.01.22 – «Ревматология»

### Актуальность темы диссертации

Системная красная волчанка (СКВ) – одна из наиболее тяжелых системных аутоиммунных заболеваний, поражающих преимущественно женщин молодого репродуктивного возраста, патогенез, которого заключается в нарушении врожденного и приобретенного иммунитета. Ведущее место при СКВ занимают атореактивные В-лимфоциты, которые взаимодействуют с Т-лимфоцитами, синтезируют аутоантитела и цитокины. Достижения современной ревматологии в ранней диагностике и своевременном назначении генно-инженерных биологических препаратов позволило успешно решать проблемы контроля и управления за заболеванием. Однако не всегда, применение стандартных методов терапии, приводит к желаемому результату. Остаются нерешенные вопросы, так например, почему терапия ГИБП оказывается недостаточна эффективна, от чего может зависеть степень деплеции после применения ритуксимаба, какая доза препарата необходима для полного истощения В-клеток. Кроме того, развитие технологий и создание таргетных препаратов обосновывает поиск новых биомаркеров течения заболевания. Поскольку современные ГИБП с успехом используемые в лечении СКВ ориентированы на подавление атореактивных В-клеток, определение различных субпопуляций В-лимфоцитов, в частности В-клеток

памяти, плазматических клеток и плазмобластов, может помочь достичь решения поставленных задач.

Таким образом, тема диссертации Меснянкиной Анны Александровны является весьма актуальной и своевременной для ревматологии.

### **Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Цель и задачи исследования чётко сформулированы и обоснованы. Достоверность, полученных в работе результатов и положений диссертационной работы, базируется на достаточном объеме исследуемой группы (n=75), адекватностью выбранных методов исследования. Все пациенты проходили стандартное клинико-лабораторное обследование, принятое при ведении системной красной волчанки. Исходно и на каждом этапе контроля осуществлялся забор крови с целью выявления субпопуляций В-лимфоцитов, которые определялись при помощи метода многоцветной проточной цитофлуорометрии.

Полученный материал обработан с применением современных методов статистического анализа, что позволило автору сформулировать обоснованные выводы и практические рекомендации. Методы исследования, применяемые в диссертации, современны, адекватны и полностью соответствуют поставленным в диссертации целям и задачам. Результаты исследования полноценно представлены в графиках и таблицах.

Все результаты диссертационной работы, положения и выводы полностью соответствуют области исследования, в которой она проводилась.

### **Научная новизна и значимость полученных результатов, выводов и рекомендаций для науки и практики**

Впервые у пациентов с системной красной волчанкой методом многоцветной проточной цитофлуорометрии проведено комплексное динамическое исследование субпопуляций В-лимфоцитов в условиях моно- и комбинированной терапии химерными моноклональными антителами к CD20+В лимфоцитам ритуксимабом и человеческими моноклональными антителами к стимулятору В лимфоцитов (BLyS) белимумабом.

Установлено, что процентное соотношение субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с системной красной волчанкой достоверно отличается от показателя

здоровых доноров и зависит от длительности, активности, иммунологических параметров (уровни АНФ, антител к двуспиральной ДНК, С4 компонента комплемента), клинических проявлений заболевания (наличие волчаночного нефрита) и предшествующей терапии.

Выявлено, что:

- у больных СКВ количество переключенных В лимфоцитов памяти достоверно ниже, а двойных негативных В-клеток памяти и плазмобластов значимо выше, чем у здоровых доноров;

- в дебюте заболевания преобладают непереключенные клетки памяти и общая популяция В-лимфоцитов памяти;

- процентная доля двойных негативных В-клеток памяти и плазматических клеток у пациентов с высокой активностью СКВ (SLEDAI-2K >10 баллов) и активным волчаночным нефритом достоверно выше, а содержание наивных В-лимфоцитов значимо ниже, чем у пациентов со средней степенью активности;

- процентное содержание непереключенных В-лимфоцитов памяти достоверно ниже при низком титре АНФ; переключенных В-клеток памяти и плазмобластов значимо выше при низких значениях антител к дсДНК и низком уровне С4 компонента комплемента, соответственно.

Показано, что высокое содержание плазматических клеток в периферической крови у больных системной красной волчанки является предиктором неполной В-клеточной деплеции после курса лечения ритуксимабом.

Впервые доказано, что последовательное применение ритуксимаба и белимумаба высоко эффективно у пациентов с системной красной волчанкой, обеспечивает подавление широкого спектра субпопуляций В-лимфоцитов и быстрое снижение клинико-лабораторной активности заболевания.

Выявлено, что к 3-му мес. после окончания курса терапии ритуксимабом достижение полной деплеции В-лимфоцитов соответствует низкой активности СКВ по SLEDAI-2K/BILAG 4; при отсутствии полной В-клеточной деплеции резидуальными клетками являются наивные В-клетки и различные субпопуляции В-клеток памяти; неполная деплеция В-лимфоцитов отмечается при повышенном базальном количестве плазматических клеток (более 0,2%).



Установлено, что начало репопуляции В-клеток после терапии ритуксимабом характеризуется нарастанием непереключенных и переключенных В-клеток памяти; процентное содержание переключенных В-клеток памяти и общей популяции В-клеток памяти через год наблюдения достоверно ниже, чем до начала лечения.

Доказано, что терапия белимумабом обеспечивает снижение клинико-лабораторной активности заболевания к 3-му мес. наблюдения, а также общего уровня CD19<sup>+</sup> В-лимфоцитов и содержания наивных В-лимфоцитов. Выявлено, что иммунологические показатели, содержание плазматических клеток и плазмобластов снижаются с 6-го мес. после инициации терапии генно-инженерными биологическими препаратами.

Установлено, что применение двух генно-инженерных биологических препаратов позволяет контролировать общую популяцию В-лимфоцитов, способствует более медленному их восстановлению у пациентов, которые не достигают полной деплеции после курса лечения ритуксимабом, и дальнейшему сокращению В-клеток после подключения белимумаба у больных с отсутствием деплеции. Комбинированная терапия поддерживает в низких концентрациях плазмобласты, плазматические клетки, общую популяцию В-клеток памяти и наивные В-лимфоциты.

#### **Проведенное исследование имеет несомненную практическую значимость.**

Полученные данные могут использоваться для дальнейших исследований роли субпопуляций В-лимфоцитов при системной красной волчанке. Выявление у пациентов низкого исходного количества переключенных и высокого уровня двойных негативных В-клеток памяти и плазмобластов у пациентов может способствовать более ранней диагностике системной красной волчанки. Высокая процентная доля двойных негативных В-клеток памяти при низком количестве наивных В-лимфоцитов может расцениваться как дополнительный критерий высокой активности СКВ

Высокое содержание плазматических клеток (>0,2%) в периферической крови у больных СКВ может расцениваться как предиктор неполной В-клеточной деплеции после курса лечения ритуксимабом и являться показанием для назначения белимумаба.

Дополняющие друг друга механизмы действия ритуксимаба и белимумаба, 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 пациентам с высокой и средней степенью активности системной красной волчанки.

#### **Полнота изложения основных результатов диссертационной работы в научной печати.**

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. Основные результаты исследования внедрены в научную и практическую работу ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой.

#### **Оценка содержания диссертации, ее структуры, объема и методов исследования.**

Диссертация написана по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных результатов, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, библиографического списка, включающего 12 отечественных и 148 иностранных литературных источников. Работа изложена на 112 страницах, иллюстрирована 19 таблицами и 19 рисунками.

Во введении автором показана актуальность исследуемой проблемы, что позволило определить цель и задачи исследования. Обоснована научная новизна и практическая значимость, представлены положения, выносимые на защиту.

Глава 1 посвящена обзору литературных данных по выбранной теме. Обзор литературы написан хорошим литературным языком, читается с интересом. Автором дана подробная характеристика субпопуляций В-лимфоцитов, их функции и роли в патогенезе СКВ. Проанализированы все имеющиеся на настоящий момент результаты исследований, ориентированных на оценку субпопуляций В-лимфоцитов при различном течении и активности заболевания, их ассоциации с клинико-лабораторными показателями СКВ. Представлены исследования других авторов о влиянии ритуксимаба и белимумаба на популяции В-лимфоцитов, где были выделены такие позиции как поиск предикторов ответа,

характер течения заболевания под влиянием ГИБП в ассоциации с количественным распределением В-клеток. Следует подчеркнуть, что количество публикаций, посвященной этой теме крайне ограничено. Именно такой скрупулёзный анализ литературных источников позволил автору обосновать необходимость данного исследования, целью которого явилось оценить совокупность изменений клинических, иммунологических показателей активности и субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с СКВ и их динамику под влиянием анти-В-клеточной и анти-BLyS терапии.

В главе 2 подробно изложены материал и методы исследования. В работу были включены 75 пациентов с диагнозом системная красная волчанка, а также 20 здоровых доноров. Срок наблюдения составил 1 год, в течение которого были проведены базальная оценка клинико-лабораторной активности заболевания и 4 контрольных визита (на 3, 6, 9 и 12 месяце). Во время каждого визита всем больным проводилась оценка активности заболевания, стандартное клинико-лабораторное и инструментальное обследование, определялось содержание субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови.

Для решения поставленных задач применялись современные методы обследования. Несомненным достоинством работы следует считать определение субпопуляции В-лимфоцитов методом многоцветной проточной цитофлуорометрии у пациентов на каждом визите в течение годового срока наблюдения. При статистической обработке результатов использовались современные методы математической статистики.

Глава 3 посвящена изложению полученных результатов. Работа состоит из двух этапов. Первый представляет собой общую сравнительную оценку субпопуляций В-лимфоцитов у 75 пациентов с СКВ и 20 здоровых доноров, на основании которой были выявлены различия в количественном содержании определенных субпопуляций В-лимфоцитов, в частности двойных негативных В-клеток памяти, уровень, которых как показал дальнейший анализ, зависел от активности заболевания и наличия волчаночного нефрита. Кроме того, было показано, что соотношение различных субпопуляций подвергался изменениям в зависимости от иммунологических показателей крови, длительности течения заболевания.



Второй этап работы - это динамическое наблюдение за 64 пациентами с СКВ, которые были разделены по схемам терапии на 3 группы: 47 человек получали ритуксимаб, 10 - белимумаб, 7 - комбинированную терапию, с последовательным применением ритуксимаба и белимумаба. Для каждой группы был проведен анализ совокупности клинико-иммунологических параметров и субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов в динамике. Проведенный анализ данных пациентов, получавших белимумаб, и больных, лечившихся ритуксимабом, позволил определить характер влияния ГИБП на различные популяции В-лимфоцитов и клинико-лабораторные показатели активности СКВ, что в дальнейшем обеспечило возможность оценки динамики среди пациентов, получавших комбинацию ритуксимаба с белимумабом.

В разделе обсуждения результатов исследования, выявленные закономерности проанализированы в сопоставлении с материалами отечественной и зарубежной литературы.

Выводы вытекают из полученных данных, полностью соответствуют задачам и в достаточной степени аргументированы. Содержание автореферата и опубликованных работ соответствуют материалам диссертации. Основные результаты диссертации неоднократно докладывались на всероссийских и международных ревматологических научных форумах, в силу чего они прошли широкую апробацию.

#### **Замечания и вопросы.**

Диссертационная работа Меснянкиной А.А. является завершенным научным трудом, выполненным на высоком научном и методическом уровне.

Принципиальных замечаний по диссертации не имеется.

#### **Заключение**

Диссертация Меснянкиной Анны Александровны на тему «Динамика субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов с системной красной волчанкой на фоне терапии генно-инженерными биологическими препаратами», выполненная под руководством профессора, доктора медицинских наук Соловьева Сергея Константиновича, является законченным научно-квалификационным трудом, в котором решается важная научно-практическая задача оптимизации диагностики и лечения системной красной волчанки, имеющая несомненное значение для

развития ревматологии. Диссертация содержит новые научные данные и положения, выдвигаемые для публичной защиты.

По актуальности темы, методологическому уровню исследования, научной новизне и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Меснянкиной Анны Александровны полностью соответствуют требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 №1024), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.22 – «Ревматология».

Официальный оппонент:

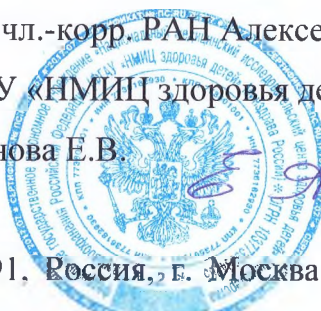
доктор медицинских наук, профессор,  
член-корреспондент РАН,  
заведующая ревматологическим отделением  
Федеральное государственное автономное  
учреждение «Национальный медицинский  
исследовательский центр здоровья детей»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации.



Е.И. Алексеева

«22» сентября 2018 г.

Подпись д.м.н., профессора, чл.-корр. РАН Алексеевой Е.И. заверяю:  
заместитель директора ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России по  
научной работе, д.м.н. Антонова Е.В.



Адрес автора отзыва: 119991, Россия, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 2,  
стр.1, Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный  
медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации

Тел. 8-495-766-34-90. Адрес электронной почты: alekatya@yandex.ru