

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Короткова Сергея Владимировича на тему: «Иммунотолерантность и иммуносупрессивная терапия при трансплантации печени», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Представленная к защите докторская диссертация С.В. Короткова посвящена одной из наиболее актуальных и сложных задач современной трансплантологии – разработке персонифицированной стратегии иммуносупрессивной терапии у реципиентов печёночного трансплантата.

Актуальность темы исследования не вызывает сомнений. Несмотря на значительный прогресс в области трансплантации печени, вопросы оптимизации иммуносупрессивной терапии остаются нерешёнными. Применение ингибиторов кальциневрина (ИКН), являющихся «золотым стандартом» иммуносупрессии, сопряжено с развитием нефротоксичности, что приводит к острому почечному повреждению (ОПП) в периоперационном периоде и формированию хронической болезни почек в отдалённые сроки после трансплантации. Данная проблема определяет необходимость поиска альтернативных подходов к иммуносупрессии, позволяющих минимизировать дозы нефротоксичных препаратов при сохранении адекватной защиты трансплантата от отторжения.

Научная новизна работы. Впервые в клинической практике проведено систематическое сравнительное исследование различных способов применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) при трансплантации печени. Каждый из этих подходов изучен в рандомизированных проспективных исследованиях с оценкой влияния на функцию трансплантата, почечную функцию, частоту отторжений и иммунофенотип реципиента.

Особую научную ценность представляет применение метода флуоресцентной гибридизации *in situ* для верификации присутствия введённых МСК в ткани трансплантата на 7-е сутки после операции. Данное наблюдение подтверждает способность МСК к миграции в ткани трансплантата, длительному пребыванию в них и реализации иммуномодулирующего эффекта клеточной терапии.

Впервые при трансплантации печени проведено детальное исследование динамики иммунофенотипа мононуклеаров периферической крови с оценкой субпопуляций Т- и В-лимфоцитов и дендритных клеток. Установлено, что формирование толерогенного иммунофенотипа при применении МСК характеризуется активацией супрессорного звена иммунитета (регуляторных Т- и В-лимфоцитов, В1а-клеток), подавлением эффекторных субпопуляций (CD3+CD4+TEM-лимфоцитов, ЕК-клеток) и специфическим перераспределением субпопуляций В-лимфоцитов. Данные изменения сохраняются в отдалённом периоде после трансплантации, что объясняет долгосрочный иммуномодулирующий эффект клеточной терапии.

Оригинальным является проведённый автором многофакторный анализ периоперационных и послеоперационных факторов риска развития острого

почечного повреждения при трансплантации печени. С использованием ROC-анализа впервые определены пороговые значения для интраоперационной кровопотери (≥ 1200 мл) и тяжести цирроза печени (≥ 10 баллов по шкале Child–Pugh), обладающие высокой чувствительностью и специфичностью в прогнозировании ОПП. Введение автором понятия «континуума почечного повреждения» при трансплантации печени, включающего периоперационное ОПП, такролимус-индуцированное ОПП и хроническую болезнь почек, позволяет системно подойти к проблеме нефропротекции у реципиентов печёночного трансплантата.

Принципиально новым является разработка и валидация молекулярно-генетических и иммунофенотипических биомаркеров иммунологической толерантности. Установлено, что экспрессия гена ИЛ-4 $\geq 0,5$ AU и абсолютное количество CD3+CD8+TEMRA-лимфоцитов $< 0,1882 \times 10^9/\text{л}$ являются надёжными критериями формирования иммунологической толерантности и позволяют выявлять субклинические формы хронического отторжения без проведения биопсии трансплантата.

Методология исследования характеризуется высоким научным уровнем и соответствует современным требованиям доказательной медицины. Автором реализован комплексный дизайн, включающий несколько типов исследований: интервенционные рандомизированные проспективные сравнительные исследования для оценки эффективности различных способов применения МСК, наблюдательные ретроспективные аналитические исследования для определения факторов риска ОПП, ретроспективное поперечное аналитическое сравнительное исследование для оценки отдалённых результатов и наблюдательное ретроспективное исследование для разработки биомаркеров иммунологической толерантности. Корректность методологии подтверждается чёткостью критериев включения, невключения и исключения пациентов, сопоставимостью. Применение современных высокоинформативных методов исследования обеспечивает объективность и достоверность полученных данных. Результаты исследования подтверждены корректной статистической обработкой с использованием адекватных методов.

Практическая значимость исследования определяется разработкой трёх оригинальных методов иммуносупрессивной терапии с применением МСК, каждый из которых имеет чёткие показания и детально разработанные протоколы применения. Анализ отдалённых результатов показывает, что применение МСК в раннем послеоперационном периоде оказывает долгосрочный положительный эффект: снижается частота развития иммунологической дисфункции трансплантата с 40% до 22% ($p=0,02$), уменьшается частота образования de novo анти-HLA антител с 20% до 5% ($p=0,007$), что позволяет безопасно минимизировать дозу такролимуса на 25% ($p=0,001$). Минимизация дозы ИКН обеспечивает выраженный нефропротективный эффект, что проявляется снижением частоты развития хронической болезни почек в 3 раза – с 68,2% до 23,4% ($p=0,01$). Разработанные биомаркеры иммунологической толерантности – экспрессия гена ИЛ-4 и абсолютное количество CD3+CD8+TEMRA-лимфоцитов –

обладают высокой диагностической ценностью (площадь под ROC-кривой 0,839 и 0,855 соответственно) и позволяют неинвазивно оценить иммунологический статус реципиента.

Внедрение результатов исследования подтверждается утверждением Министерством здравоохранения Республики Беларусь трёх инструкций по применению, получением патента на изобретение и, что особенно важно, включением разработанных методов в клинический протокол «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» (утверждён постановлением Совета Министров Республики Беларусь № 31 от 13.02.2023).

Публикационная активность автора полностью соответствует требованиям ВАК к докторским диссертациям. По теме диссертации опубликовано 34 научные работы, в том числе 18 статей в рецензируемых научных журналах (16 в изданиях Республики Беларусь и 2 в зарубежных журналах), 2 статьи в сборниках научных трудов, 9 работ в сборниках тезисов докладов и материалов конференций. Общий объём публикаций в рецензируемых изданиях составляет 14,07 авторских листа.

Структура и оформление автореферата соответствуют установленным требованиям. Автореферат чётко структурирован, логично изложен, содержит все необходимые разделы. Объём автореферата (43 страницы) адекватен объёму диссертационного исследования. Список публикаций автора (34 работы) полностью отражает содержание диссертации и демонстрирует последовательность решения поставленных задач.

Основные положения, выносимые на защиту сформулированы чётко и логично, полностью отражают содержание диссертационной работы и соответствуют поставленным задачам.

Выводы диссертации логично вытекают из представленного материала, чётко сформулированы и полностью соответствуют поставленным задачам исследования. Они обобщают основные научные результаты работы и демонстрируют решение актуальной научной проблемы.

Практические рекомендации конкретны, детально разработаны и готовы к непосредственному применению в клинической практике. Они включают чёткие протоколы применения МСК при различных клинических ситуациях с указанием доз, кратности и сроков введения клеточного продукта, а также алгоритмы коррекции иммуносупрессивной терапии и иммунологического мониторинга.

Заключение

Диссертационная работа С.В. Короткова «Иммунотолерантность и иммуносупрессивная терапия при трансплантации печени» представляет собой завершённое научное исследование, в котором на основании выполненного комплексного многопланового анализа решена актуальная научная и практическая проблема, имеющая важное медицинское и социальное значение.

Автором разработана и научно обоснована инновационная стратегия иммуносупрессивной терапии с применением мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации печени, включающая персонифицированный

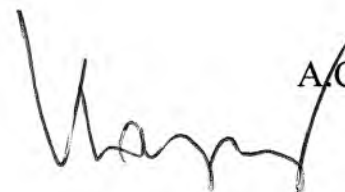
подход к назначению иммуносупрессии на основе оценки факторов риска ОПШ, оригинальные методы клеточной терапии для различных клинических ситуаций и систему иммунологического мониторинга с использованием валидированных биомаркеров толерантности.

Внедрение разработанной стратегии в клиническую практику обеспечивает улучшение результатов трансплантации печени за счёт снижения частоты иммунологической дисфункции трансплантата, уменьшения нефротоксических осложнений иммуносупрессивной терапии и формирования стабильной иммунологической толерантности, что подтверждено результатами длительного наблюдения.

Диссертация выполнена на высоком методологическом уровне с применением современных методов исследования и корректной статистической обработкой данных. Результаты работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях, представлены на авторитетных международных конференциях, защищены патентом и внедрены в клинический протокол Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы, а её автор, **Коротков Сергей Владимирович**, заслуживает присуждения учёной степени **доктора медицинских наук**.

Доктор медицинских наук, профессор,
главный врач УЗ «Брестская областная
клиническая больница»


А.С. Карпицкий

Согласен А.С. Карпицкий 08.02.2016
Лаз. отделе админ. Е.Р. Колесниченко

