

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента

доктора биологических наук профессора Великановой Людмилы Иосифовны  
на диссертационную работу Кузьмина Юрия Борисовича  
«Растворимая форма супрессора активации Т-клеток VISTA  
в сыворотке крови как маркер при новообразованиях костей»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Диссертационная работа Ю.Б. Кузьмина посвящена важной проблеме современной клинической лабораторной диагностики, а именно внедрению новых методов для неинвазивной диагностики и оценки прогноза заболевания пациентов с новообразованиями костей. Для решения этой проблемы автор предлагает использовать анализ растворимой формы супрессора активации Т-клеток VISTA в сыворотке крови.

Известно, что опухоли костей сравнительно редко встречающаяся группа новообразований соединительной ткани, для которых характерно крайне агрессивное течение, неблагоприятный прогноз и резистентность к проводимой лекарственной терапии. Для большинства опухолей костей локальная симптоматика является неспецифичной, а основным методом диагностики является гистологическое исследование материала, полученного при открытой биопсии новообразования, рентгенологическое исследование и остеосцинтиграфия костей скелета.

При этом важно отметить, что этиология новообразований костей, как и большинства опухолей, неизвестна, патогенез изучен не до конца. Однако остается неоспоримым тот факт, что у больных саркомами костей нарушения молекулярно-биологических процессов, в том числе и противоопухолевого иммунитета, лежат в основе клеточной пролиферации, инвазии и метастазирования.

Поэтому интерес к этой актуальной и своевременной диссертационной работе связан с двумя факторами. Во-первых, обнаружено, что контрольные

белки чрезмерно экспрессируются не только опухолевыми клетками, но и окружающими их иммунными клетками, что предотвращает их противоопухолевую активность и нарушает естественные механизмы регуляции. Поэтому можно предположить, что блокада иммунных контрольных точек у больных первичными злокачественными опухолями костей становится наиболее многообещающей стратегией в лечении этой категории пациентов. Во-вторых, важную роль в регуляции противоопухолевого иммунитета имеет недавно открытая контрольная точка иммунитета VISTA, которая подавляет активацию Т-клеток и имеет общую гомологию последовательностей как с PD-1, так и с PD-L1, принадлежащих семейству B7.

Однако особый интерес для сферы клинической лабораторной диагностики представляют исследования растворимых форм sVISTA в периферической крови больных различными онкологическими заболеваниями, несмотря на то, что происхождение sVISTA пока точно не установлено. Кроме того, в последнее время, число публикаций по растворимым формам контрольных точек иммунитета выросло, и самое большое число работ посвящено одной из них – соотношению PD-1/PD-L1, а именно, основным компонентам этой контрольной точки иммунитета, растворимым формам рецептора программируемой гибели клеток (programmed cell death protein 1 - PD-1) sPD-1 и его лигандам sPD-L1 и sPD-L2 у больных с различными новообразованиями. При этом, некоторые исследователи указывают на их роль в клиническом течении и прогнозе ряда онкологических заболеваний. В тоже время исследований, посвященных растворимой форме sVISTA при новообразованиях костей и других солидных опухолях на данном этапе опубликовано недостаточно.

Следовательно, актуальность выбранной темы исследования, ее своевременность и практическая значимость не вызывают сомнения.

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

Степень статистической значимости диссертационной работы Кузьмина Ю.Б. основана на полном соответствии с запланированным дизайном исследования. В своей диссертационной работе автор представил данные обследования достаточного количества пациентов, которые составили две группы: 112 больных первичными злокачественными (саркомаами) и 13 пациентов с пограничными опухолями костей. Диссертант использовал для сопоставления с этими группами пациентов равнозначных по возрасту и полу группу контроля, которую составили 42 практически здоровых донора. В работе использованы современные высокочувствительные лабораторные методики, которые полностью соответствуют поставленным целям и задачам. Сделанные выводы логично вытекают из результатов и соответствуют содержанию работы. Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

### **Научная новизна исследования**

Диссертантом впервые в России проведено одновременное сравнительное иммуноферментное исследование содержания sVISTA в сыворотке крови больных первичными злокачественными и пограничными опухолями костей с учетом их связи с основными клиническими и морфологическими характеристиками заболевания, прогнозом общей выживаемости. Автор в проведенном исследовании обнаружил снижение в сыворотке крови больных злокачественными новообразованиями костей исходных до начала лечения показателей исследуемого маркера sVISTA по сравнению со здоровыми донорами, при этом у большинства пациентов чаще выявляли низкие концентрации маркера в сыворотке крови.

Показано, что уровни sVISTA не отражают ключевые критерии системы TNM. Однако выявлена связь сывороточных уровней sVISTA с гистологическим строением опухолей костей и их локализацией в костях

скелета. Вместе с тем, диссертант установил, что концентрации sVISTA не зависели от пола, как у здоровых доноров, так и у больных новообразованиями костей. Однако у больных саркомами костей отмечена обратная корреляционная зависимость между возрастом и концентрацией sVISTA в сыворотке крови.

Кроме того, в работе показаны разнонаправленные различия уровней растворимых белков-мишеней таргетной иммунотерапии рецептора sPD-1, а также его лиганда sPD-L1 и лиганда RANKL, рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора NF-κB в периферической крови пациентов с злокачественными новообразованиями и пограничными опухолями костей.

### **Научно-практическая значимость результатов диссертации**

Впервые было проведено иммуноферментное исследование растворимых форм sVISTA на большом репрезентативном материале (125 первичных больных новообразованиями костей). В ходе диссертационной работы были выявлены разнонаправленные различия уровней растворимых форм sPD-1, sPD-L1 и sRANKL в периферической крови пациентов с злокачественными новообразованиями и пограничными опухолями костей.

Анализ полученных диссертантом данных позволил установить, что сывороточные уровни sVISTA статистически значимо связаны с гистологическим строением, локализацией и типом опухоли, что может быть использовано в качестве нового диагностического маркера. Изучены прогностические возможности иммуноферментного маркера sVISTA для оценки общей выживаемости больных злокачественными опухолями костей, при этом установлено, что фактором прогноза при хондросаркоме могут служить более низкие концентрации sVISTA в периферической крови. Изучены новые теоретические аспекты функционирования растворимой формы супрессора активации Т-клеток VISTA при новообразованиях костей различных гистологических типов, локализаций, проанализирована связь с рядом клиничко-морфологических особенностей изучаемых заболеваний.

Представленные лабораторные сведения обладают непосредственно практическим значением, так как позволяют оптимизировать диагностический и лечебный алгоритм при обследовании больных злокачественными новообразованиями костей с учетом биологических характеристик заболевания, планировать перспективные направления клинико-лабораторных исследований.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из следующих разделов: введения, обзора данных литературы, главы «Материалы и методы исследований», главы «Результаты собственных исследований», обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка условных сокращений и указателя цитируемой литературы, который включает 210 источников, из них 21 работа отечественных и 189 работ зарубежных авторов. Диссертационная работа иллюстрирована 37 рисунками и 30 таблицами.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранного исследования, описывает дизайн исследования, формулирует цель и ставит задачи, необходимые для ее достижения. Цель достаточно четкая, имеет научную новизну и отражает актуальность планируемой работы. Последовательность сформулированных задач, требующих решения, соответствует теме диссертации, а их решение служит основанием достижения цели выполненной работы.

В обзоре литературы диссертантом сделан подробный анализ источников современной отечественной и зарубежной литературы по исследуемой теме. Представлены современные экспериментальные и клинические работы по исследованию VISTA, PD-1, PD-L1, RANKL при различных солидных и гематогенных опухолях, в том числе при первичных новообразованиях костей. Литература представлена, как зарубежными авторами, так и отечественными. Автор выделил вопросы, вызывающие бесспорный научный интерес. Обзор написан грамотно, хорошим

литературным языком, цитирование современной научной литературы свидетельствует о высокой эрудированности автора, его глубоких знаний существа анализируемой проблемы.

Материалы и методы исследования адекватны поставленной цели и решаемым задачам. В данной главе представлена подробная характеристика клинического материала, а также методы лабораторных исследований, выбранные соискателем для решения задач и достижения цели работы. Все методы информативны, высокочувствительны и современны. Объем клинического материала, использованный в научной работе, представлен 125 пациентами с новообразованиями костей из них 112 пациентов с злокачественными, 13 с пограничными опухолями костей и 42 практически здоровых донора. Данного материала достаточно для обстоятельного анализа полученных результатов и сделанных выводов, которые соответствуют цели и задачам диссертации. Крайне важным является то, что все включенные в научную работу пациенты проходили обследование и лечение в одном учреждении – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации с 2017 по 2021 гг.

Статистический анализ полученных данных проведен с использованием современных программных пакетов для статистического анализа «STATISTICA» и SPSS.

Результаты собственных исследований представлены в третьей и четвертой главах, в которых Ю.Б. Кузьмин приводит подробный анализ полученных данных, а также их роль в оценке общего прогноза заболевания (группа злокачественных новообразований костей). Автором впервые установлено статистически значимое увеличение показателя концентрации sVISTA в сыворотке крови здоровых доноров группы контроля по сравнению с таковым в общей группе больных новообразованиями костей. Выявлена связь уровня sVISTA с гистологическим строением опухоли. Важно отметить, что автором в результате исследования была выявлена

статистически значимая зависимость между уровнями sVISTA и sPD-L1, sRANKL у больных саркомами костей в возрасте старше 40 лет при хордоме, саркоме Юинга и поражении губчатых костей.

В заключении представлен последовательный анализ диссертационной работы. Обсуждение полученных результатов и сопоставление их с данными мировой и отечественной литературы логично приводят к выводам и практическим рекомендациям. Диссертационная работа заканчивается семью выводами и практическими рекомендациями, которые научно обоснованы, корректно и логично завершают работу.

### **Обоснованность положений диссертации**

Высокая степень статистической значимости и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений. Выводы и практические рекомендации логичны, актуальны, обоснованы достаточным фактическим материалом, вытекают из полученных данных работы и полностью отражают ее содержание. Научное и практическое значение исследования не вызывает сомнений. Принципиальных замечаний по работе нет.

### **Заключение**

Диссертация Кузьмина Юрия Борисовича «Растворимая форма супрессора активации Т-клеток VISTA в сыворотке крови при новообразованиях костей» является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи, а именно клинической значимости связи исследованных лабораторных показателей с основными клинико-морфологическими характеристиками злокачественных опухолей костей и с оценкой общего прогноза заболевания, что имеет существенное значение для клинической лабораторной диагностики и клинической медицины при диагностике и выборе адекватной терапии пациентов с опухолями костей.

Прикладными аспектами выступает разработка биохимических маркеров, применимых для предварительной оценки характера

новообразования, а также оценки прогноза общей выживаемости больных саркомами костей.

Диссертационная работа полностью соответствуют требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Автор диссертации, Кузьмин Ю.Б., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

#### **Официальный оппонент**

Заведующий научно-исследовательской лабораторией хроматографии  
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Северо-Западный государственный  
медицинский университет им. И.И. Мечникова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
доктор биологических наук профессор

«\_22\_»\_мая 2023 г\_

Великанова Людмила Иосифовна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Адрес: 191015, Россия, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41.  
Телефон +7-921-379-32-95  
E-mail: velikanova46@gmail.com

Подпись д.б.н., профессора Великановой Л.И. заверяю.  
Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный  
медицинский университет им И.И. Мечникова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации»  
д.м.н., доцент



Трофимов Е.А.