

ОТЗЫВ

**официального оппонента
на диссертационную работу**

**Высочина Игоря Валерьевича «Особенности заготовки и
криоконсервирования тромбоцитов для клинического применения»,
представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских
наук по специальностям 14.01.21 – гематология и переливание крови**

Актуальность темы выполненной работы

В связи со своего рода уникальностью тромбоцитных концентратов и все возрастающей потребностью в них залогом максимального обеспечения нужд пациентов является создание обширных запасов донорских тромбоцитов максимально широкого спектра фенотипов. Однако ограничение сроков хранения тромбоцитных концентратов не позволяет достичь этой цели, и лишь криоконсервирование тромбоцитов является на сегодняшний день единственной возможностью решения данной задачи. Создание и поддержания банка криоконсервированных тромбоцитных концентратов способно как приблизить обеспеченность больных в донорских тромбоцитах к 100%, так и повысить инфекционную безопасность данного компонента крови, а также обеспечить подбор максимально совпадающих пар донор-реципиент не только по антигенам эритроцитных систем, но также по HLA- и HPA-системам, тем самым предупреждая развитие иммунной рефрактерности к трансфузиям тромбоцитов. С другой стороны, доступность криосохраненных тромбоцитных концентратов зависит от продолжительности и сложности их подготовки к трансфузии.

При всех очевидных преимуществах на сегодняшний день криоконсервирование донорских тромбоцитов является одним из наименее разработанных разделов производственной трансфузиологии, что имеет ряд объективных причин, из которых, прежде всего, следует отметить сложность сохранения функциональной активности тромбоцитов в процессе замораживающей/размораживающей. В свете вышеизложенного, тема работы

Высочина Игоря Валерьевича представляется актуальной и имеющей важное практическое значение.

Научная новизна

Автором впервые представлено решение актуальной задачи трансфузиологии – разработки технологии получения тромбоцитных компонентов длительного хранения для эффективного лечения больных с геморрагическим синдромом на фоне тромбоцитопении. Автором обоснован комплекс мероприятий, направленных на обеспечение биологической полноценности аллогенных тромбоцитов как на этапе селекции доноров, так и дальнейшего процессинга тромбоцитных концентратов. Им аргументированы оптимальные условия криоконсервирования аллогенных тромбоцитов, сформулированы новые критерии оценки эффективности терапии тромбоцитными концентратами на основании расчета концентрации функционально активных тромбоцитов.

В результате выполнения настоящих исследований автором заложены предпосылки для обеспечения запаса аллогенных тромбоцитов длительного хранения, имеющего в т.ч. стратегическое значение, не зависящего от донорской активности, доступного в производстве и обеспечивающего достаточную клиническую эффективность.

Обоснованность используемых методов

В работе использованы современные высокочувствительные аналитические методы, которые соответствуют поставленным в работе задачам и позволяют выполнить их в полной мере. Используются адекватные для получения достоверных результатов выборки и методы статистической обработки данных.

Практическая значимость полученных результатов

Результаты исследования внедрены в повседневную практику ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ». Разработанная технология и устройства криоконсервирования тромбоцитов защищены шестью патентами РФ. На их основе производство криоконсервированных тромбоцитов начато

в семи республиканских и областных станциях переливания крови РФ: Владимир, Тюмень, Ижевск, Ханты-Мансийск, Екатеринбург, Астрахань, Уфа, и можно рекомендовать дальнейшее внедрение данной методики в иных субъектах Службы крови.

Распространение разработанной методики позволит расширить ресурсный потенциал тромбоцитных концентратов, тем самым повысить доступность их для пациента, увеличить эффективность лечения и снизить риски, связанные с их применением.

Полнота изложения диссертации в научной печати

Результаты исследований опубликованы в 36 печатных работах, из них 10 статей в журналах (в том числе 6 изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ), 6 патентов РФ на изобретение и полезную модель, 19 тезисов в сборниках конференций, 1 глава в «Трансфузиология: национальное руководство».

Структура диссертации

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 153 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, трех глав результатов собственных исследований, обсуждения, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, включающего 57 отечественных и 116 зарубежных источников, и содержит 11 приложений. Иллюстративный материал представлен 15 рисунками и 13 таблицами.

Во введении коротко и исчерпывающе охарактеризована проблема, ясно показана актуальность, сформулированы цель, научная новизна и практическое значение проведенного исследования.

Глава 1 традиционно посвящена обзору литературы, в котором описаны и критически проанализированы разные ранее предложенные методы криоконсервирования тромбоцитов, представлены данные о токсическом влиянии диметилсульфоксида на организм человека, в том числе, в зависимости от введенной дозы, обоснована необходимость применения

морфофункциональных методов исследования донорских тромбоцитов для оценки их биологической полноценности, представлены показания и результаты клинического применения тромбоцитных концентратов, подчеркнута необходимость иммунологической совместимости тромбоцитов донора и реципиента. Данную главу отличает широта и междисциплинарный характер представления материала, но это не является излишним, поскольку акцентирует внимание на пробелах, существующих в наших знаниях о возможности и целесообразности криоконсервации тромбоцитов. В целом, глава очень содержательна, информативна, содержит большое количество ссылок на работы, опубликованные в последние 5-7 лет.

В главе 2 «Материал и методы исследования» представлен объем и дизайн проведенного исследования, подробно описаны использованные методы криоконсервирования тромбоцитных концентратов, охарактеризованы способы оценки их биологической полноценности и клинической эффективности их применения, а также представлено описание статистической обработки результатов исследования. Многоэтапность проведенного исследования соответствует поставленным автором задачам, и в итоге обеспечила исчерпывающую полноту изучения проблемы и успешное завершение работы.

Глава 3 - «Морфофункциональный анализ тромбоцитов крови доноров и в тромбоцитных концентратах, используемых в клинической практике» - расширяет наши представления о качественном состоянии как тромбоцитов донора, так и изменении их функционального состояния после заготовки и в процессе хранения, тем самым создавая предпосылки к обоснованию дополнительных критериев отбора кандидатов на донации тромбоцитов. Отмечены более высокая концентрация функционально активных тромбоцитов у женщин, а также обратная зависимость между тромбоцитным числом и долей функционально активных тромбоцитов, что позволяет не рассматривать доноров с числом тромбоцитов менее $200 \times 10^9/\text{л}$ как не перспективных. При помощи молекулярных маркеров автором убедительно

показано наличие процессов активации тромбоцитов в процессе хранения тромбоцитных концентратов со снижением доли функционально активных тромбоцитов и без существенного скрамблинга фосфолипидов.

В главе 4 «Разработка способа криоконсервирования тромбоцитов с учетом морфофункциональных характеристик клеток» подведен итог разработке оригинального способа криоконсервирования тромбоцитов. После проведения критического анализа ранее предложенных технологий и не удовлетворившись ими, автор обосновал оптимальную концентрацию и сроки экспозиции тромбоцитов с ДМСО, предложил собственную композицию криопротектора, протокол консервации и восстановления тромбоцитного концентрата, разработал необходимые для этого приспособления. Благодаря внесенным изменениям удалось существенно снизить концентрацию ДМСО в конечном продукте, тем самым предупреждая возможные его токсические влияния на пациента без применения отмывки. С использованием методики оценки функционально активных тромбоцитов автор убедительно показал преимущество оригинальной методики перед ранее предложенными, а также сохранение биологической полноценности тромбоцитного концентрата в процессе криоконсервирования. Отмечено, что исходно более высокая концентрация функционально активных тромбоцитов является условием их большей концентрации и после размораживания.

Глава 5 «Оценка клинической эффективности и безопасности применения криоконсервированных тромбоцитов у больных с хирургической патологией» подводит логический итог всему исследованию, доказывая клиническую эффективность применения криоконсервированных тромбоцитных концентратов. Наряду со скорректированным приростом тромбоцитов автор предлагает рассматривать в качестве критерия эффективности переливания тромбоцитных концентратов скорректированный прирост функциональной активных тромбоцитов и показывает, что при использовании криоконсервированных тромбоцитов

этот показатель сопоставим с использованием аллогенных тромбоцитов, не подвернутых замораживанию.

В главе 6 – «Обсуждение» - автор, используя результаты ранее проведенных исследований, предлагает объяснение найденных закономерностей, прежде всего обращая внимание на производственную и клиническую ценность определения функциональной активности тромбоцитов, а также размышления о перспективах более широкой заготовки криосохраненных аллогенных тромбоцитов, из которых особенно следует отметить повышение инфекционной безопасности их применения и возможность подбора фенотипически идентичных пар донор-реципиент.

Достоверность результатов и обоснованность выводов

Полученные в работе Высочина И.В. выводы достоверны. Приведен тщательный анализ данных литературы по теме диссертации. Сопоставляемые группы представлены достаточным числом образцов или наблюдений. Методы статистического анализа выбраны адекватно. По итогам работы сформулировано 6 выводов, которые логично следуют из полученных результатов. Положения, выносимые на защиту, являются весомыми, подтверждены полученными результатами.

Автореферат отражает основные положения диссертации. Принципиальных замечаний по методологическим подходам, научной новизне, практической ценности, обоснованности выводов нет.

Заключение

Диссертация Высочина Игоря Валерьевича на тему: «Особенности заготовки и криоконсервирования тромбоцитов для клинического применения» - является самостоятельным, логически завершенным научным исследованием, в котором предложено решение научной задачи – разработка метода криоконсервирования аллогенных тромбоцитов, обеспечивающего сохранение их биологической полноценности при заготовке и хранении и эффективность - при клиническом применении, имеющей большое научное и практическое значение для трансфузиологии и здравоохранения в целом.

Работа полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (ред. от 1 октября 2018), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а Высочин Игорь Валерьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Заведующий отделом клинической и
производственной трансфузиологии с
диагностической лабораторией -
врач - трансфузиолог
ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр сердечно-сосудистой
хирургии им. А.Н. Бакулева»
Минздрава России
д.м.н.



Купряшов А.А.

Подпись д.м.н. А.А.Купряшова заверяю

Учёный секретарь
Института кардиохирургии им. В.И.Бураковского
ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр сердечно-сосудистой
хирургии им. А.Н. Бакулева»
Минздрава России,
д.м.н., профессор



Кокшенев И.В.

”06” сентября 2019 года