

Отзыв
доктора медицинских наук
Долгополова Игоря Станиславовича
на диссертационную работу Высочина Игоря Валерьевича
«Особенности заготовки и криоконсервирования тромбоцитов для
клинического применения», представленной на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и
переливание крови.

Актуальность темы научного исследования

Основной задачей службы крови является обеспечение безопасными и эффективными компонентами крови пациентов, получающих лечение в стационарных и амбулаторных условиях. В современных условиях применения высокотехнологичных и интенсивных методов терапии и хирургии особенное значение имеет обеспечения больных продуктами крови в реальном масштабе времени, бесперебойно и круглосуточно. Решение этой задачи осуществляется с помощью применения комплекса мер и технологий, включающих аппаратный цитаферез, методики хранения и криоконсервации, особенно для таких препаратов крови, как тромбоконцентрат, длительность хранения которого в нативном виде не превышает 5 суток. В настоящее время тромбоцитные концентраты заготавливают методом афереза или из дозы крови без учета функциональной активности тромбоцитов. Однако, ранее проведенные исследования отечественных и зарубежных авторов показали, что функциональная активность клеток у разных доноров различна. В связи с этим чрезвычайно важным является разработка новых способов заготовки и хранения тромбоцитных концентратов длительного срока хранения, содержащих функционально активные клетки, а также новые методы оценки эффективности трансфузии ТК.

Автором диссертации поставлена и успешно решена актуальная задача разработки, исследования и практического применения технологии криоконсервирования тромбоцитов с учетом функциональной активности клеток. Также автором работы самостоятельно разработаны и внедрены приспособления и устройства, необходимые для обеспечения функционирования методики. Актуальность задачи обусловлена тем, что потребность в тромбоцитных компонентах очень высока как при лечении онкогематологических больных, так и пациентов хирургического и терапевтического профиля. При этом до сих пор остаются открытыми вопросы об инфекционной и иммунологической безопасности, оценки эффективности проводимых трансфузий.

Основные результаты диссертационной работы

Исследованы отечественные и международные требования к качеству нативных и криоконсервированных тромбоцитарных компонентов, обоснована необходимость оценки функциональной активности тромбоцитов в трансфузируемом материале в связи с высокой вариабельностью их количества у разных доноров. Дифференцированы 3 группы доноров в зависимости от уровня функциональной активности тромбоцитов, что позволяет персонифицированно подбирать донора в зависимости от лабораторных, клинических параметров и веса реципиента, что повышает эффективность трансфузии и позволяет снизить их общее количество.

Разработана и внедрена в практику эффективная и безопасная методика криоконсервации тромбоцитов в условиях замкнутой системы, обеспечивающей высокую сохранность клеток, а также биологическую безопасность продуктов крови.

Определены границы значения общего уровня и уровня активных тромбоцитов в концентрате оптимальные для криоконсервирования, с тем, чтобы трансфузия размороженного материала была наиболее эффективной. Следует отметить, что криоконсервирование и долгосрочное хранение тромбоцитов позволяет предупредить или, по меньшей мере, существенно снизить риск передачи опасных инфекций от донора путем карантинизации и выбраковку.

Автором убедительно показана большая эффективность трансфузий донорских тромбоцитов в паре донор-реципиент совместимых по антигенам системы АВ0, резус-фактору, а так же по антигенам тромбоцитов и лейкоцитов человека, что позволяет пересмотреть клинические протоколы трансфузии тромбоцитарных компонентов, особенно, для политрансфузируемых пациентов.

Достоверность результатов диссертационной работы

Методика оценки функциональной активности тромбоцитов и их криоконсервации валидирована и апробирована на почти 2000 образцах тромбоконцентратов, что делает выборку репрезентативной. Полученные автором экспериментальные данные обработаны с применением адекватных статистических методов и достоверны. Объем проведенных исследований достаточен для выработки обоснованных заключений. Выводы обоснованы результатами исследований и четко сформулированы. Результаты исследования представлены в виде устных и стеновых докладов на 22 отечественных и международных конференциях, конгрессах и симпозиумах: По теме диссертации опубликовано 36 работ, из них 10 статей в журналах (6 в 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».

Научная новизна

В представленной диссертационной работе впервые в России показано распределение доноров крови и тромбоцитарных продуктов по уровню функциональной активности тромбоцитов, показана неоднородность популяции доноров тромбоцитов. Выявлены 3 популяции доноров с колебаниями функциональной активности тромбоцитов от 35% до 75%, независимо от их абсолютного количества в крови. Разработан способ криоконсервации тромбоцитов с учетом оценки морфофункциональной активности клеток, включающий морфофункциональный анализ тромбоцитов до и после криоконсервации с использованием комбинированного КП CryoSure-DEX 40 на основе ДМСО и декстрана 40, разделение ТК на тромбоцитсодержащую часть и бесклеточную плазму. Доказана возможность снижения концентрации криопротектора ДМСО с 10% до 5-6% без нарушения эффективности хранения материала и клинического применения.

Автором самостоятельно разработано устройство для криоконсервации тромбоцитов и устройство для подготовки криоконсервированного тромбоконцентрата к трансфузии, что исключает ручные манипуляции и снижает риск микробной и вирусной контаминации. Впервые исследовано влияние исходного морфофункционального статуса тромбоцитов на сохранность функциональной активности тромбоцитов в процессе криоконсервации автоматическим способом. На большом клиническом материале показано, что заготовленные предложенным способом тромбоциты являются клинически эффективными. Клиническая коррекция геморрагического синдрома (ГС) отмечено в 70% случае при трансфузии нативного тромбоконцентрата и в 80% случаев при трансфузии криоконсервированного тромбоконцентрата, при этом функциональная активность тромбоцитов в криоконсервированном тромбоконцентрате

превосходила активность тромбоцитов в нативном после Зих суток хранения на шейкере в стандартных условиях.

Автором разработан новый показавший клиническую эффективность параметр оценки эффективности трансфузии тромбоконцентрата – скорректированный прирост функциональной активности тромбоцитов, что важно для клинического применения у пациентов в состоянии длительной аплазии кроветворения после интенсивной и высокодозной химиотерапии, а так же в условиях резистентной острой тромбоцитопении.

Научно-практическая значимость

В диссертационной работе показана высокая клиническая эффективность криоконсервированного тромбоконцентрата, приготовленных по разрабатываемой технологии и не уступающих по своему качеству нативному тромбоконцентрату первых двух суток хранения. Предложен новый способ оценки эффективности трансфузии тромбоцитов, позволяющий прогнозировать риск последующего кровотечения и необходимость трансфузионной коррекции клеточного звена гемостаза. Автором самостоятельно, впервые в России, разработан новый способ и устройства для криоконсервации тромбоцитов, защищенные 6 патентами на территории РФ. Предложенный автором диссертационной работы способ криоконсервации тромбоцитов внедрен в практику в ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ГБУЗ Владимирской области «Областная станция переливания крови» и ГБУЗ Тюменской области «Областная станция переливания крови», что показывает его воспроизводимость и технологичность. Выявленная автором работы неоднородность донорской популяции в плане функциональной активности тромбоцитов, а также зависимость результатов трансфузий тромбоцитов от совместимости пары донор-реципиент по АВ0 группе крови и резус-фактору, позволяет увеличить

клиническую эффективность переливания как криоконсервированного, так и нативного тромбоконцентратов.

Оценка содержания диссертации

Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста, состоит из глав и разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследований (3 главы)», «Обсуждение результатов», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации», «Список литературы». Список литературы включает 173 источника, из них 57 отечественных и 116 зарубежных. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 15 рисунками.

Первая глава посвящена обзору литературы, изложена на 22 страницах. В главе подробно освещены все существующие методики криоконсервации тромбоцитов, рассмотрены преимущества и недостатки использования различных криопротекторов. В этом разделе уделено особое внимание системному токсическому действию ДМСО, как основного криопротектора, и методам борьбы с ним. Большую часть обзора литературы занимает всестороннее и подробное рассмотрение методов оценки эффективности трансфузий криоконсервированных продуктов, содержащих тромбоциты. Автор рассматривает их преимущества и недостатки, преимущества и ограничения их использования. Интересным представляется подраздел обзора литературы, посвященный клиническому применению тромбоцитарных компонентов, где автором подробно и всесторонне рассмотрены показания к трансфузии в различных клинических ситуациях. Обзор литературы легко читается, написан хорошим литературным языком. Замечаний по данному разделу нет.

Вторая глава - «Материалы и методы» изложена на 13 страницах, состоит из 9 подразделов и проиллюстрирован 2 таблицами и 3 рисунками.

Дана подробная характеристика клинического материала, а также материально-технической базы, на которой проводилось исследование. Описаны использованные методики заготовки тромбоконцентратов, криоконсервации, оценки функциональной активности тромбоцитов в тромбоцитарных продуктах до и после консервации, приведены формулы расчета эффективности трансфузий. Так же дана оценка методики иммунологической совместимости тромбоцитарных концентратов с реципиентом. Четко определены критерии проведения исследований и статистической обработки полученных данных. Замечаний по главе нет.

Третья глава - «Морффункциональный анализ тромбоцитов в крови доноров и в тромбоцитарных концентратах, используемых в клинической практике» изложена на 7 и проиллюстрированная 3 рисунками и 2 таблицами, состоит из 3 подразделов, посвященных анализу активности тромбоцитов в крови доноров и в полученных тромбоконцентратах, в том числе, и с учетом гендерных различий. Также в главе на большем практическом материале дан анализ динамики активности тромбоцитов и их количественным характеристикам в зависимости от длительности и условий хранения.

Четвертая глава – «Разработка способа криоконсервирования тромбоцитов с учетом морффункциональных характеристик клеток» изложена на 19 страницах и проиллюстрирована 7 рисунками и 3 таблицами, состоит из 10 подразделов. В данном разделе работы подробно рассмотрены преимущества предлагаемой методики крио консервации тромбоцитов, показана высокая сохранность функции тромбоцитов после разморозки, предложены устройства и методика для криоконсервации. Также подробно описан разработанный автором процесс криоконсервации тромбоконцентрата. В ряде фраз хотелось бы видеть более конкретные цифры, а не ограничиваться фразами типа "в течение нескольких часов". При указании в тексте, что те или иные результаты достоверно

различались желательно приводить значение коэффициента Стьюдента рядом с абсолютными цифрами, тем более, что в таблицах он имеется. Принципиальных замечаний к данном разделу работы не имеется.

Пятая глава – «Оценка клинической эффективности и безопасности применения криоконсервированных тромбоцитов у больных с хирургической патологией» изложена на 20 страницах и проиллюстрирована 2 рисунками и 6 таблицами, состоит из 6 подразделов. Убедительно показано, что эффективность трансфузии криоконсервированного по методике, предложенной автором, тромбоконцентрата сравнима с трансфузией нативного концентрата со сроком хранения не более 48 часов. Глава проиллюстрирована клиническими примерами. Особый интерес представляет раздел 6 данной главы, где представлены данные, свидетельствующие не только о высокой клинической эффективности трансфузии тромбоцитосодержащих продуктов, подобранных по лейкоцитарным и тромбоцитарным антигенам пары "донор-реципиент", но и об экономической целесообразности данного подхода.

Главы хорошо иллюстрирована и написана доступным языком, делающим понятным суть проведенной работы даже не специалисту в области трансфзиологии. Принципиальных замечаний по главам нет.

Шестая глава - «Обсуждение результатов» состоит из 14 страниц и обобщает полученные результаты. В главе представлено обсуждение результатов диссертационной работы в сравнении с литературными данными.

Работу завершают заключение, 6 выводов, 8 практических рекомендаций, список приведенных сокращений и список литературы.

Выводы диссертационной работы отражают основные положения диссертации, полностью соответствуют поставленным целям и задачам.

Представленные автором данные и выводы имеют большую научную и практическую ценность для врачей-трансфузиологов, иммунологов, хирургов, онкологов, трансплантологов, гематологов, других врачей-специалистов, связанных с трансфузиями тромбоцитосодержащих препаратов крови и иммуннообусловленными реакциями на трансфузии препаратов крови. Для организаторов здравоохранения будут интересны разделы работы, посвященные экономическим обоснованиям трансфузий криоконсервированных, совместимых по различным параметрам, тромбоцитов

Принципиальных замечаний по диссертации нет.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Высоцина Игоря Валерьевича «Особенности заготовки и криоконсервирования тромбоцитов для клинического применения», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение, как для трансфузиологии и Службы крови, так и для врачебных специальностей, связанных с трансфузией тромбоцитосодержащих продуктов крови, по организации бесперебойного обеспечения лечебного процесса высококачественными и безопасными тромбоконцентратами. Разработанная автором первая отечественная закрытая автоматизированная система для криоконсервирования тромбоцитов позволяет эффективно заготавливать тромбоконцентрат с минимальным риском вирусной и микробной контаминации, а также осуществлять карантинизацию тромбоцитосодержащих продуктов крови. Полученные патенты и внедрение данной системы в других учреждениях здравоохранения РФ подтверждают высокую ценность работы и ее

воспроизводимость. Данные о более высокой эффективности трансфузий тромбоцитов, подобранных по человеческим лейкоцитарным и тромбоцитарным антигенам, позволяют пересмотреть политику трансфузий тромбоцитосодержащих продуктов у больных, которым планируются многократные переливания продуктов крови, снизить у них риск сенсибилизации и развития рефрактерности к трансфузиям

Диссертационная работа соответствует критериям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» №842 от 24 сентября 2013 года (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года №335, от 2 августа 2019 года №748, от 29 мая 2017 года №650, от 28 августа 2017 года №1024 и от 01 октября 2018 года №1168), предъявляемых к диссертациям на соискание степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Главный научный сотрудник НИИ детской онкологии и гематологии
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

доктор медицинских наук

Долгополов И.С.

Подпись д.м.н. Долгополова Игоря Станиславовича
«ЗАВЕРЯЮ»

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России

к.м.н.

Кубасова И.Ю.

Почтовый адрес: 115478 Москва, Каширское шоссе, д. 24. Тел. +7(499) 324-11-14, <http://www.ronc.ru>, mail: kanc@mail.ru