

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, доцента, декана факультета биомедицинских наук института медицинского образования, профессора кафедры лабораторной медицины и генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации **Сироткиной Ольги Васильевны** на диссертационную работу *Габрильчак Анастасии Ивановны* на тему: «*Клинико-лабораторные предикторы хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры*», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Актуальность темы исследования

Клинико-лабораторная диагностика идиопатической тромбоцитопенической пурпуры является актуальной проблемой современной медицины. Наиболее частой причиной повышенной кровоточивости у взрослых и детей является тромбоцитопения. Нормальное содержание тромбоцитов в периферической крови имеет довольно широкий референсный интервал и лежит в пределах от $150-450 \times 10^9/\text{л}$, так же эти значения могут варьировать в зависимости от возраста и пола. Формально снижение количества тромбоцитов ниже $150 \times 10^9/\text{л}$ можно трактовать как тромбоцитопению. Однако незначительное уменьшение количества тромбоцитов в крови чаще всего клинически не проявляется, и обследование больных начинается при снижении этого показателя до $100 \times 10^9/\text{л}$ и ниже. Более того, в отсутствие травм и хирургических вмешательств, геморрагические осложнения обычно развиваются при более глубокой тромбоцитопении, характеризующейся снижением количества тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$.

Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура или иммунная тромбоцитопения (ИТП) является наиболее распространенным заболеванием в группе тромбоцитопений, составляющим не менее 40% всех геморрагических синдромов у детей. Патогенез ИТП реализуется через следующие механизмы:

продукция аутоантител к рецепторам мембраны тромбоцитов — гликопротеинам GP IIb/IIIa и GP Ib/IX; повышенная деструкция комплекса антиген-антитело в селезенке; комплемент-опосредованный лизис тромбоцитов; лизис тромбоцитов Т-лимфоцитами; неадекватная продукция тромбоцитов.

Хроническое течение иммунной тромбоцитопении приводит к сокращению продолжительности жизни или инвалидности, снижению качества жизни. Соответственно возникает необходимость поиска предикторов риска хронизации данного заболевания.

Современные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры детей и взрослых включают в себя большой перечень клинических исследований, необходимых для установления причины тромбоцитопении и исключения других гематологических заболеваний. Однако неоднородность патогенетических механизмов, лежащих в основе ИТП, отсутствие достоверных клинических и лабораторных показателей, позволяющих прогнозировать хронизацию и рецидивирование заболевания — всё это диктует необходимость проведения широкого дифференциального поиска, внедрения новых высокочувствительных лабораторных методов обследования.

Не вызывает сомнения, что новые и информативные данные об особенностях патогенеза и оценки рисков хронизации указанного заболевания можно получить, изучая новый биологический материал — миелоплазму.

Все вышеперечисленное подтверждает безусловную актуальность настоящего исследования, определяет его четко сформулированные цель и задачи.

Степень новизны, обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертации Габрильчак А.И. впервые представлены результаты стандартизации пробоподготовки образцов миелоплазмы и валидация биохимических методик ее анализа. Показана приемлемость использования биохимического и иммунологического исследования миелоплазмы для определения содержания железа, ферритина, трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина (sTfR) и активности аланинаминотрансферазы. Получены новые сведения о взаимосвязи активности аланинаминотрансферазы в миелоплазме и видах тромбоцитопений, на основании которых разработан и запатентован способ оценки метаболической активности мегакариоцитарного ростка костного мозга (Патент № 2672471 от 19.03.2018 г.). Таким образом, не вызывает сомнений, что полученные результаты обладают научной новизной и имеют практическую ценность.

Все поставленные диссертантом цель и задачи исследования выполнены. Основные научные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации сформулированы, исходя из результатов статистически достоверных исследований достаточного количества образцов. Выводы диссертационного исследования корректны и в полной мере отражают полученные результаты.

Теоретическая и практическая значимость работы

Данные, полученные диссертантом, имеют существенное теоретическое и практическое значение.

Автором научно обосновано значение определения фактора роста эндотелия сосудов, ферритина и интерлейкина-8 в миелоплазме и плазме пациентов с первичной ИТП в качестве предикторов хронического течения заболевания. Подтверждены возможности биохимического исследования

миелоплазмы с поэтапным описанием валидирующих мероприятий для последующего определения содержания железа, ферритина, трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина (sTfR) и активности аланинаминотрансферазы.

Получены новые теоретические знания об интерстициальной жидкости костного мозга, а также о влиянии микроокружения на мегакариоцитарный росток костного мозга.

Полученные результаты исследования внедрены в учебную работу кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Практические рекомендации, полученные по результатам диссертационной работы используются практической деятельности клинико-диагностических лабораторий и отделений гематологии и химиотерапии Клиник ФГБОУ ВО СамГМУ МЗ РФ, ГБУЗ СО «Тольяттинская городская клиническая больница №5», ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. В.Д. Середавина», ГБУЗ «Самарская областная детская клиническая больница им. Н.Н. Ивановой».

Достоверность и апробация результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием комплекса современных, воспроизводимых, высокотехнологичных биохимических и иммунологических методов. Для обоснования основных положений диссертационной работы были использованы анализ литературы, изучение нормативных документов, лабораторные и статистические методы.

Экспериментальная часть диссертационной работы Габрильчак Анастасии Ивановны проведена с соблюдением этических норм научных исследований.

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 3 в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень ВАК России для опубликования основных результатов диссертационных исследований, получен 1 патент. Результаты диссертационного исследования и основные положения работы были неоднократно представлены и обсуждены на шести научных конференциях всероссийского уровня. Публикации полностью отражают основные результаты диссертационного исследования.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертация Габрильчак Анастасии Ивановны является завершенной работой, построенной по традиционному плану, изложенной литературным языком на 201 странице машинописного текста, иллюстрирована 31 таблицей и 54 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, 3 глав с изложением результатов собственных исследований, заключения, выводов, приложения и списка литературы, который включает в себя 15 отечественных и 292 зарубежных источников.

После введения, в котором отражены данные об актуальности темы, определены цель и задачи исследования, представлен обзор литературы по освещаемой проблеме, где автор анализирует уже опубликованные данные для формирования собственной оценки существующей проблемы диагностики и прогнозирования хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры. Обзор литературы аргументирует необходимость проведения диссертационной работы и связан с материалом, представленным в главах собственных исследований. В обзоре приведены современные данные о понимании процесса мегакариопоэза. Центральному звену в кроветворении уделено подробное внимание, описан процесс транскрипционного регулирования и созревания мегакариоцитов от

стволовой гемопоэтической клетки до зрелого мегакариоцита, приведены современные данные, касающиеся жизненного цикла тромбоцитов в норме и при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре, уделено внимание трудностям лабораторной диагностики и прогнозирования хронического течения ИТП.

В главе 2, посвященной описанию материалов и методов исследования, представлены данные об использовании современных лабораторных методов исследования, позволяющих получить достоверные результаты на достаточном количестве исследуемых образцов. Представлена схема дизайна исследования. Использование пакета современных компьютерных программ математической и статистической обработки позволяет автору делать обоснованные выводы и давать практические рекомендации. Далее во второй главе оценивается возможность биохимического анализа миелоплазмы, в связи с чем автором подробно описаны этапы проведения валидации методик по исследованию определения содержания железа, ферритина, трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина (sTfR) и активности аланинаминотрансферазы. Следует особо подчеркнуть значимость данной части работы по определению аналитических характеристик используемых методик и их клинической информативности.

Третья глава посвящена анализу изменений миелограммы, мегакариоцитогаммы костного мозга и гемограммы периферической крови у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой. Описаны характерные изменения показателей мегакариоцитарной формулы, которые автором сгруппированы в два типа.

Четвертая глава отражает вариабельность показателей костного мозга и периферической крови у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой в зависимости от возраста и пола. Возрастная градация произведена подробно, дети разделены на 6 подгрупп, а взрослые на 4 подгруппы. Показано,

что возрастной фактор среди детских подгрупп оказывает существенное влияние. Данная часть диссертационного исследования имеет большое практическое значение.

В пятой главе приводятся результаты биохимического и иммунологического исследования миелоплазмы и плазмы крови пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой. Было отмечено снижение уровня железа и повышении уровня интерлейкина-6 в миелоплазме у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой. Последующее ретроспективное проведенное исследование в группе пациентов с установленным хроническим течением идиопатической тромбоцитопенической пурпуры позволило определить несколько предикторов хронизации заболевания, что нашло отражение в практических рекомендациях.

В главе «Заключение» автор анализирует и обсуждает полученные данные с точки зрения современных тенденций, формулирует собственное мнение о дальнейших перспективах разработки темы, основанное на полученных данных. Выводы логичны и вытекают из результатов исследования, соответствуют поставленным задачам. Практические рекомендации сформулированы четко, имеют значение для здравоохранения в целом и лабораторной службы в частности.

Автореферат диссертационной работы Габрильчак А.И. полноценно отражает содержание диссертационной работы.

Соответствие специальности

Диссертационная работа, выполненная Габрильчак А.И., по тематике, методам исследования, научным положениям и выводам соответствует паспорту специальности 3.3.8. – клиническая лабораторная диагностика со следующими областями исследований (пункты 1, 2, 3, 7).

Замечания по диссертационной работе

В целом работа Габрильчак Анастасии Ивановны оставляет хорошее впечатление. Содержание диссертации, ее оформление, характер изложения материала соответствуют всем установленным критериям. Существенных замечаний по работе и тексту диссертации нет. Однако в порядке научной дискуссии хотелось бы задать диссертанту несколько вопросов:

1) Среди исследованных лабораторных маркеров в данной работе присутствует эритропоэтин. Почему был выбран данный маркер, и, напротив, Вы не включили в работу исследование тромбopoэтина?

2) Были ли у Вас сведения о генетических вариантах тромбоцитарных рецепторов GP IIb-IIIa и GP Iba в обследуемых группах пациентов, как по Вашему мнению могут соотноситься наличие таких генетических вариантов и снижение количества тромбоцитов?

3) Довольно часто в качестве группы сравнения/контрольной группы выбирают условно-здоровых индивидуумов. Чем был обусловлен выбор в качестве группы сравнения пациентов с анемией?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Габрильчак Анастасии Ивановны на тему: «Клинико-лабораторные предикторы хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований решена актуальная задача поиска дополнительных лабораторных показателей, позволяющих спрогнозировать хроническое течение идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, что имеет существенное значение для клинической лабораторной диагностики и терапии заболевания.

Представленная диссертационная работа соответствует требованиям, установленным пп.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Габрильчак Анастасия Ивановна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.


Официальный оппонент

Декан факультета биомедицинских наук института медицинского образования, профессор кафедры лабораторной медицины и генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
Телефон: +7(812)702-55-67
e-mail: Sirotkina_OV@almazovcentre.ru

доктор биологических наук, доцент  Сироткина Ольга Васильевна

20 сентября 2023 года

Подпись Сироткиной Ольги Васильевны заверяю
Ученый секретарь
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России

доктор медицинских наук, профессор  Недошивин Александр Олегович

