

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Кробинец Ирины Ивановны на тему «Медико-биологические аспекты обеспечения иммунологической безопасности трансфузий компонентов крови у пациентов с гематологическими заболеваниями», представленную к официальной защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.21 - гематология и переливание крови

Актуальность диссертационной темы. Диссертационная работа Кробинец Ирины Ивановны посвящена повышению иммунологической безопасности гемотрансфузий путем разработки методических подходов к проведению иммуногематологических исследований у реципиентов, доноров крови и ее компонентов. Трансфузии компонентов донорской крови сопряжены с риском неблагоприятных посттрансфузионных реакций (ПТР) у реципиентов, возникающих вследствие организационных, методических и технических недостатков и ошибок. Большинство гемолитических ПТР связано с неправильной идентификацией результатов предтрансфузионных тестов. Особенно это актуально для пациентов с гематологическими заболеваниями, которые характеризуются как снижением экспрессии антигенов, так и наличием перекрестно реагирующих антител. Правильность интерпретации результатов предтрансфузионных тестов у таких пациентов является ключевым фактором профилактики аллоиммунизации и ПТР. В клинической практике трансфузии гранулоцитного концентратата осуществляют пациентам с неконтролируемой антибактериальной терапией сепсиса, а также при сепсисе новорожденных. При трансфузии несовместимого по антигенам нейтрофилов гемокомпонента у пациента повышается риск развития аллоиммунизации и, как следствие, развивается рефрактерность к последующим трансфузиям. Более того, трансфузии донорских компонентов, содержащих анти-HNA антитела могут привести к развитию TRALI. Таким пациентам требуется индивидуальный подбор, опирающийся на знания о распределении антигенов системы HNA. Имеющиеся методические подходы требуют совершенствования, включая разработку новых с учетом современных технических возможностей

Научная новизна. Научная новизна не вызывает сомнения. Разработана и апробирована методика генотипирования HNA-антиненов у доноров крови и пациентов с гематологическими заболеваниями, основанная на полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени, позволившая получить данные об особенностях распределения HNA-аллелей и генотипов.

Получены новые данные об особенностях распределения антигенов систем HNA у доноров крови и пациентов с гематологическими заболеваниями, расширяющие представления о медико-биологических основах обеспечения безопасности трансфузий компонентов крови у пациентов. Разработан новый методический подход к выявлению HNA иммунизации, позволивший впервые оценить уровень аллоиммунизации у доноров и реципиентов. На основании представленных оригинальных методических подходов впервые разработан алгоритм, позволяющий уточнить характер впервые выявленной иммунной нейтропении, в том числе у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями. Доказано, что основными причинами сложности интерпретации результатов исследований антигенов эритроцитов систем ABO и Rh и антител к ним у пациентов с

гематологическими заболеваниями являются снижение экспрессии антигенов эритроцитов систем ABO, Rh и концентрации анти-А, анти-В антител, наличие двойных популяций, аллоиммунных, аутоиммунных и перекрестно-реагирующих антител. Установлено, что применение молекулярно-генетического типирования групп крови эритроцитов у реципиентов с трансфузионным химеризмом позволяет достоверно определить группы крови эритроцитов, в случаях, когда результаты серологического типирования невозможны интерпретировать. Впервые разработан алгоритм скрининга антител с использованием моноклональных антител (MA) CD38, позволяющий сохранить экспрессию антигенов эритроцитов и обнаруживать в непрямом антиглобулиновом тесте клинически значимые антитела к трансфузионно опасным антигенам систем групп крови эритроцитов.

Практическая значимость. Диссертационная работа Кробинец И.И. обладает практической значимостью в области гематологии и трансфузиологии как на современном этапе, так и для дальнейшего развития фундаментальных исследований. Разработана и апробирована методика генотипирования, предназначенная для выполнения исследований по HNA-типированию у доноров крови и пациентов с гематологическими заболеваниями. Предложенный методический подход к выявлению антител к антигенам систем HNA позволяет провести дифференциальную диагностику причин нейтропении у пациентов с первично выявленной нейтропенией, а также у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями. Показана необходимость использования молекулярно-генетических методов типирования групп крови эритроцитов у реципиентов с трансфузионными химеризмами, что позволяет повысить иммунологическую безопасность трансфузионной терапии. Разработанные алгоритмы скрининга антиэритроцитарных антител позволяют выявить антитела в сложных случаях, осуществить идентификацию специфичности выявленных антител, дифференцировать перекрестно-реагирующие антитела, не имеющие клинического значения, и аутоиммунные и/или аллоиммунные антитела, имеющие клиническое значение, в том числе у пациентов с множественной миеломой, получающих терапию моноклональными антителами анти-CD38.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа Кробинец Ирины Ивановны написана по традиционной схеме на 216 страницах машинописного текста и состоит из введения, основной части, включающей в себя обзор литературы, материалы и методы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы, содержащего 266 источников, из которых 59 отечественных и 207 зарубежных. Работа иллюстрирована 43 рисунками и 40 таблицами.

Работа написана хорошим литературным языком, материал изложен логично и последовательно. В обзоре литературы представлены известные на сегодняшний день сведения об иммуногенетических характеристиках системы HNA, их значение в иммунологии и в качестве причины иммунных конфликтов, включая ПТР.

В главе «Материалы и методы» представлены сведения о больных, включенных в исследование, диагностических методиках, способах обработки полученных данных. Автором использован широкий набор современных иммуногематологических, генетических и иммунологических методов лабораторной диагностики. В работе проанализирован большой фактический материал: образцы крови 2610 пациентов с гематологическими заболеваниями, и 3500 доноров крови и

ее компонентов, которым было выполнено 12 571 и 36 585 исследований соответственно.

Результаты собственных исследований изложены в соответствии с задачами. Так, третья глава посвящена разработке методики генотипирования антигенов HNA методом аллель-специфичной ПЦР в присутствии интеркалирующего красителя EVAGreen. Проведена оценка эффективности применения оригинальных праймеров. Показана высокая аналитическая чувствительность и специфичность ПЦР. Преимуществами данного метода являются возможность детекции ПЦР-продуктов в процессе реакции, исследование кинетики их накопления, отсутствие стадии электрофореза. Кроме того, оценка результатов в режиме реального времени снижает риск контаминации продукта ПЦР. Применение разработанной методики позволило провести анализ особенностей распределения аллелей и генотипов HNA и оценить риск HNA аллоиммунизации у доноров крови и ее компонентов и больных гематологическими заболеваниями г. Санкт-Петербурга.

Четвертая глава посвящена разработке методики выявления антител к антигенам нейтрофилов методом проточной цитофлуориметрии. Преимуществом предлагаемой методики является высокая чувствительность и специфичность, высокая производимость, возможность анализировать небольшое число клеток, отсутствие необходимости выделения гранулоцитов на градиенте плотности, что неизбежно сопровождается потерей клеток. Предлагаемый метод позволяет выявлять ауто- и аллоантитела классов G и M. Использование разработанной методики выявления антител к антигенам нейтроильных гранулоцитов позволило оценить уровень аллоиммунизации у доноров крови и ее компонентов г. Санкт-Петербурга.

Пятая глава посвящена анализу причин возможных ошибок типирования антигенов эритроцитов и выявления антиэрритроцитарных антител и разработке алгоритмов исследований в сложно диагностируемых случаях предтрансфузионного тестирования.

Шестая глава посвящена разработке нового методического подхода для выявления клинически значимых антиэрритроцитарных антител у пациентов с множественной миеломой, получающих терапию лекарственными препаратами на основе анти-CD38 моноклональных антител.

В заключительной части диссертации автором обобщены результаты проведенного исследования. Выполнен анализ собственных данных в традиционной форме и с привлечением данных других авторов.

Выводы соответствуют поставленным задачам. Положения, выносимые на защиту, основаны на анализе полученных данных и соответствуют цели и задачам исследования.

Результаты исследования использованы при подготовке методических указаний «Иммуногематологическое обследование доноров крови и (или) её компонентов и реципиентов» (утв. ФМБА России, 2017), методического пособия «Алгоритмы индивидуального подбора гемокомпонентов и проведения исследования антигенов эритроцитов и антиэрритроцитарных антител в сложно диагностируемых случаях» (утв. ФМБА России, 2018), методики «Методика ДНК-типирования антигенов нейтрофилов ПЦР в реальном времени» (утв. ФМБА России, 2019), методики «Методика диагностики антител к антигенам гранулоцитов» (утв. ФМБА России, 2020). Разработанные методы диагностики внедрены в практическую деятельность

Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального Медико-биологического агентства» (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России). Теоретические положения и практические результаты докторской диссертации используются в образовательной деятельности ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

Полнота изложения материалов докторской диссертации обеспечена публикацией 34 печатных работ, в том числе 15 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов докторских исследований. По теме докторской диссертации получено одно ноу-хау и поданы две заявки о выдаче патента на изобретение.

Основные положения, материалы и результаты работы доложены и обсуждены на многочисленных Всероссийских и международных конференциях и конгрессах.

Замечания по докторской работе

Докторская диссертация написана хорошим языком и выполнена на высоком научно-методическом уровне. Принципиальных замечаний по методологии, научной новизне и обоснованности выводов нет.

В качестве дискуссии хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

1. При трансфузии несовместимого по антигенам HNA концентрата нейтрофилов повышается не только риск развития аллоиммунизации и рефрактерности к последующим трансфузиям, но и есть реальный риск развития посттрансфузионной болезни «трансплантат против хозяина». По Вашему мнению, как лучше предотвратить такие риски, путем гамма обучения компонентов донорской крови или генотипирования антигенов нейтрофилов, скрининга анти-HNA антител с идентификацией их специфичности у доноров и реципиентов?
2. Для профилактики TRALY необходимо провести генотипирование антигенов HLA I-II класса, антигенов HNA с поиском и идентификацией анти-HLA, анти-HNA антител или ограничиться трансфузией гемокомпонентов от доноров мужчин?

Заключение

Докторская диссертация Кробинец Ирины Ивановны «Медико-биологические аспекты обеспечения иммунологической безопасности трансфузий компонентов крови у пациентов с гематологическими заболеваниями», представленная к официальной защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.21. – гематология и переливание крови является законченным научно-квалификационной работой, имеющей важное значение для развития отечественной трансфузиологии и обеспечении иммунологической безопасности.

По своей актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов докторская диссертация Кробинец Ирины Ивановны соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 (в редакции Постановления

Правительства № 335 от 21.04.2016), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук. Автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.21. - гематология и переливание крови.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета послевузовского образования имени профессора Б.В.Афанасьева ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Минздрава Российской Федерации доктор медицинских наук, специальность: 14:01:21 гематология и переливание крови



197 198 г. Санкт-Петербург, улица Большая

Пушкинская д.2 кв.14 Телефон: +7 965 034 68 12

Адрес эл. почты: blood_bbb@mail.ru

Подпись руки автора: Баховадинов.

Спец. по кадрам Р. И. Ракашко

«19» 05 2012г.