

Отзыв
официального оппонента по диссертации Мицура Екатерины
Фёдоровны

«Наследственный сфероцитоз у детей: морфофункциональные характеристики эритроцитов и новые аспекты лабораторной диагностики», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови

Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите

Диссертационная работа Мицура Екатерины Фёдоровны по теме исследования, цели и задачам, объектам и предмету исследования, по выдвинутым на защиту положениям, основным результатам и выводам полностью соответствуют паспорту специальности 14.01.21 – «гематология и переливание крови» и отрасли – медицинские науки.

Актуальность темы диссертации

Актуальность темы диссертационной работы Мицура Екатерины Фёдоровны определяется прежде всего тем, что до начала ее эпидемиологических исследований отсутствовали данные по заболеваемости и распространенности, а также по структуре гемолитических анемий у детей в Республики Беларусь. Известно, что гемолитические анемии у детей гетерогенны по этиологии и патогенезу и являются важной медицинской проблемой, так как по своей распространенности данная патология занимает второе место в структуре всех анемий среди детского населения. Особенно важной проблемой является ранняя диагностика наследственного сфероцитоза у детей, что необходимо для своевременного оказания медицинской помощи и прогноза течения заболевания. Для диагностики наследственного сфероцитоза широко используются показатели гематологических параметров. Традиционные методы диагностики сложны и не всегда информативны, поэтому возникла необходимость поиска дополнительных ранних и специфических предикторов наследственного сфероцитоза с генетически обусловленными дефектами структуры белков мембраны эритроцитов.

Таким образом, выявление новых чувствительных морфофункциональных характеристик эритроцитов и поиск новых диагностических приемов является актуальным для повышения качества диагностики и оказания своевременной медицинской помощи пациентам с наследственным сфероцитозом.

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, которые выносятся на защиту диссертации.

В диссертационной работе Мицура Екатерины Фёдоровны получено много новых и важных результатов. О научной новизне можно сказать следующее.

На основании анализа заболеваемости и структуры гемолитических анемий у детей от 0 до 18 лет в Республике Беларусь за 16 лет (в период с 2005 по 2020 гг.) установлены распространенность наследственного сфероцитоза и дополнительные гематологические показатели для его диагностики. Обнаружено, что впервые выявленные случаи гемолитических анемий регистрируются преимущественно у детей первого года жизни (69,6%), а наследственный сфероцитоз составляет 50,4% в структуре впервые выявленных гемолитических анемий. Соискателем установлена распространенность наследственного сфероцитоза у детей в Беларуси, которая составляет 8,18 на 100 тыс. детского населения.

Впервые у пациентов детского возраста с наследственным сфероцитозом с помощью атомно-силовой микроскопии выявлена неоднородность структуры мембранного цитоскелета эритроцитов для дискоцитов и изменение её степени, связанное с процессом трансформации дискоцитов в сфероциты.

Выявлена высокая диагностическая значимость оценки осмотической резистентности эритроцитов методом проточной цитометрии.

Соискателем, вынесены на защиту 4 положения, которые базируются на результатах проведенного исследования и подробно раскрыты в опубликованных соискателем материалах.

К наиболее важным из положений можно отнести следующие.

1. Установлена средняя заболеваемость гемолитическими анемиями в Республике Беларусь в период с 2005 по 2020 гг.- 1,79 на 100 тыс. детского населения без значимого изменения динамики роста, причем случаи гемолитических анемий регистрируются преимущественно у детей первого года жизни (69,6%). Наследственный сфероцитоз составляет 50,4% в структуре впервые выявленных гемолитических анемий.

2. Выявлены зависимые от возраста детей отношения ряда эритроцитарных индексов - $MCHC/Ht$, $Hb/MCHC$, Hb/RDW , $MCHC/MCV$ и $MCHC/RDW$, которые являются можно отнести к ранним и высокоспецифичным предикторам наследственного сфероцитоза.

3. Как установлено с помощью атомно-силовой микроскопии, при наследственном сфероцитозе степень неоднородности пространственной организации мембранного скелета эритроцитов значительно снижается при переходе от дискоцитов к сфероцитам. У пациентов с наследственным сфероцитозом снижена способность плазмы крови к подавлению люминолзависимой хемилюминесценции радикалообразующей смеси характеризующей оксидативный стресс, прямо связанный со степенью тяжести заболевания.

4. Определение осмотической резистентности эритроцитов с помощью проточной цитометрии имеет диагностическую чувствительность 93,9% и специфичность 83,3% и является эффективным методом диагностики наследственного сфероцитоза.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Сформулированные в диссертации выводы обоснованы и вытекают из представленных результатов экспериментальных исследований. Представленные в диссертации результаты экспериментов по их количеству и качеству достаточны для анализа, научных обобщений и объективных выводов. Высокий уровень проведенных исследований виден из результатов, представленных в 21 таблице и на 20 рисунках. Статистическая обработка данных подтверждают достоверность полученных результатов. Сделанное на основе выводов заключение обосновано и в целом соответствует материалам диссертации и публикациям автора. Содержание автореферата полностью соответствует материалам, представленным в диссертации.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации и рекомендации по их использованию

На основании анализа представленных в диссертации и автореферате результатов можно заключить, что полученные результаты являются не только новыми, но и значимыми для современной гематологии.

Научная значимость диссертации Мицура Екатерины Фёдоровны определяется следующим.

Во-1-х, с помощью атомно-силовой микроскопии обнаружена неоднородность пространственной организации мембранного скелета эритроцитов при наследственном сфероцитозе у детей. Степень неоднородности значительно снижается при переходе от дискоцитов к

сфероцитам, что сопровождается увеличением фрактальной размерности (D_F) и снижением лакуарности (λ) для карт латеральных сил участков поверхности клеток.

Во-2-х, у пациентов с наследственным сфероцитозом снижена способность плазмы крови к подавлению люминолзависимой хемилюминесценции радикалообразующей смеси (36% vs 52% у здоровых лиц, $p < 0,0001$), характеризующей оксидативный стресс, что связано со степенью тяжести заболевания.

Наряду с фундаментальным характером выполненного исследования очевидна **практическая, экономическая и социальная значимость** результатов диссертационной работы.

Практическая значимость диссертации заключается в следующем.

Во-1-х, использование дополнительных параметров гемограммы и их соотношений позволяет осуществлять раннюю диагностику наследственного сфероцитоза в практике педиатра.

Во-2-х, оценка способности плазмы пациентов с наследственным сфероцитозом к подавлению люминолзависимой хемилюминесценции может использоваться в качестве дополнительного маркера тяжести заболевания, что является патогенетическим обоснованием включения антиоксидантов в схему лечения наследственного сфероцитоза, особенно при тяжелой степени тяжести заболевания.

В-3-х, создан «Алгоритм диагностики гемолитических анемий у детей», который может использоваться на всех уровнях оказания медицинской помощи в Республике Беларусь и позволяет с минимальными затратами определять основные виды гемолитических анемий у детей.

В-4-х, разработана и утверждена в Минздраве РБ инструкция по применению «Метод определения осмотической резистентности эритроцитов с использованием проточной цитометрии», которая предназначена для врачей-гематологов, врачей лабораторной диагностики и других врачей-специалистов. Метод выполняем в специализированных лабораториях, оборудованных проточным цитометром. Его использование позволяет быстрее и объективнее оценить осмотическую резистентность эритроцитов по сравнению с классическим методом.

Экономическая и социальная значимость выполненного исследования обусловлена разработкой и внедрением в практику указанных выше методов.

Результаты исследования внедрены в работу ГУ «РНПЦ ДОГиИ», ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», в учебный процесс на кафедре клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии УО «Гомельский

государственный медицинский университет», в учебный процесс на кафедре детской онкологии, гематологии и иммунологии ГУО «БелМАПО» (в настоящее время – ИПКиПКЗ БГМУ).

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликована 31 печатная работа, из них 11 статей в рецензируемых научных журналах, находящихся в перечне ВАК РБ, 12 статей в других журналах и в сборниках научных конференций и 8 тезисов докладов. Общий объем опубликованных материалов составляет 10,0 авторских листа, что полностью соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь.

Степень опубликованности основных положений и полученных результатов диссертационной работы в научных рецензированных изданиях является достаточной. Также достаточной является и апробация результатов работы на научных конференциях.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Относительно оформления работы можно сказать следующее. Диссертационная работа изложена на 122 страницах, оформлена по традиционному типу и состоит из введения, общей характеристики работы, литературного обзора (глава 1), главы 2, посвященной изложению материалов и методов исследования, трех глав, содержащих результаты собственных исследований и их обсуждение (главы 3-5), заключения, списка использованных источников и собственных публикаций соискателя и приложения. Диссертация хорошо иллюстрирована.

В обзоре литературы (20 страниц) Мицура Е.Ф. проанализировала литературные сведения о гемолитических анемиях у детей и особенности клинического течения наследственного сфероцитоза, а также осложнений, часто возникающих при лечении. Хорошо описаны морфологические и функциональные характеристики эритроцитов при наследственном сфероцитозе и роль антиоксидантной системы в патогенезе этого заболевания. Особое внимание соискатель уделила рассмотрению существующих методов диагностики наследственного сфероцитоза у детей. В итоге соискатель сделала вывод, что традиционная диагностика наследственного сфероцитоза недостаточно информативна, продолжительна во времени и требует больших трудозатрат. С целью повышения чувствительности и специфичности диагностики соискатель посвятила свои исследования поиску новых подходов для диагностики наследственного сфероцитоза у детей, используя методы атомно-силовой микроскопии и проточной цитометрии.

Во 2-й главе диссертации «Материал и методы исследования» соискатель

представила дизайн исследования, включающий 4 этапа.

Впечатляет подробное описание как материалов, так и использованных современных методов исследования. Это говорит о высокой квалификации соискателя. Благодаря использованию различных подходов к решению проблемы и применению современных методов статистического анализа автору удалось получить значимые результаты.

Представленные в главах 3-5 результаты углубленного анализа заболеваемости и структуры гемолитических анемий в Республике Беларусь за 2005–2020 годы, позволили соискателю определить распространенность наследственного сфероцитоза у детей и подростков. Получены новые данные о естественном течении наследственного сфероцитоза, сроках установления диагноза, установлены граничные значения дополнительных гематологических показателей в целях диагностики наследственного сфероцитоза, в том числе у детей первого года жизни. Хочется особо отметить, что впервые у пациентов с наследственным сфероцитозом с помощью атомно-силовой микроскопии в наномасштабе выявлена неоднородность структуры мембранного цитоскелета эритроцитов с формированием микровезикул, образование которых сопровождает трансформацию дискоцитов в сфероциты. Доказана высокая диагностическая значимость метода определения осмотической резистентности эритроцитов с оценкой доли сохранных клеток в гипотонических буферах на проточном цитометре, с определением референтных значений. Установлена высокая значимость теста связывания с эозин-5 малеимидом для диагностики наследственного сфероцитоза у детей.

О новизне, научной, практической и социальной значимости полученных результатов уже сказано выше.

При рассмотрении и анализе представленных в диссертации экспериментальных данных возникли небольшие вопросы и замечания.

1. Соискатель для исследования мембран эритроцитов использовала метод атомно-силовой микроскопии и применила для расчетов программу, разработанную другими учеными, есть ссылки на авторов, что вполне нормально. Но на наш взгляд, излишним является представление в диссертации математических формул, разработанных авторами (стр. 35).

2. В главе 2 при описании методики определения осмотической резистентности эритроцитов сказано, что были использованы образцы крови 33 пациентов с наследственным сфероцитозом (возраст с от 1 года до 32 лет, старше 18 лет были 6 человек) и 30 детей контрольной группы. Непонятно, почему не были исключены из исследования пациенты старше 18 лет, ведь работа посвящена изучению морфофункциональных

характеристик эритроцитов детей при наследственном сфероцитозе.

3. Имеются небольшие замечания по поводу оформления диссертации. Не совсем удачны выражения соискателя при описании результатов исследований ученых, выполненных в разных лабораториях мира, - «...в итальянском исследовании..», «...в бразильском исследовании...», «...в Турции..» (стр.15 диссертации). В Заключение не упомянуты 1 и 2 работы соискателя.

Высказанные замечания ни в коей мере не умаляют общей **высокой оценки** рассматриваемой диссертационной работы.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Представленные в диссертации материалы свидетельствуют о том, что научная квалификация соискателя высокая и полностью соответствует ученой степени кандидата медицинских наук, на которую она претендует.

Диссертационная работа Мицура Екатерины Фёдоровны «Наследственный сфероцитоз у детей: морфофункциональные характеристики эритроцитов и новые аспекты лабораторной диагностики» является завершенным, самостоятельно выполненным научным исследованием, содержащим научные результаты, соответствующие критериям новизны, научной, практической и социально-экономической значимости.

Ученая степень кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – «гематология и переливание крови» может быть присуждена Мицура Екатерине Фёдоровне за совокупность новых научных результатов по актуальному научному направлению в детской гематологии, включающих:

- анализ средней заболеваемости гемолитическими анемиями детей в Республике Беларусь за 16 лет и установление факта, что случаи гемолитических анемий регистрируются преимущественно у детей первого года жизни и наследственный сфероцитоз у детей составляет 50,4% в структуре впервые выявленных гемолитических анемий;

- установление граничных значений дополнительных гематологических показателей в целях диагностики наследственного сфероцитоза;

- выявление у пациентов с наследственным сфероцитозом неоднородности структуры цитоскелета мембран эритроцитов и формирования микровезикул, образование которых сопровождает трансформацию дискоцитов в сфероциты;

- установление высокой значимости теста связывания с эозин-5 малеимидом с эритроцитами для диагностики наследственного сфероцитоза у детей.

- разработку «Алгоритма диагностики гемолитических анемий у детей»;

-разработку, установление высокой диагностической значимости и внедрение в клиническую практику метода определения осмотической резистентности эритроцитов с использованием проточной цитометрии.

Главный научный сотрудник
лаборатории медицинской
биофизики ГНУ «Институт биофизики
и клеточной инженерии НАН Беларуси»
д.б.н., профессор, член-корр.НАНБ

Слоб — Е.И.Слобожанина

04.04. 2024 г.

