

УТВЕРЖДАЮ

Директор государственного учреждения
«Республиканский научно-
практический центр детской онкологии,
гематологии и иммунологий»

А.В. Солнцева

28 марта 2024 г.



ОТЗЫВ

оппонирующей организации государственного учреждения
«Республиканский научно-практический центр детской онкологии,
гематологии и иммунологий», на диссертационную работу
Мицура Екатерины Федоровны «Наследственный сфероцитоз у детей:
морфофункциональные характеристики эритроцитов и новые аспекты
лабораторной диагностики», представленную на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности
14.01.21 – гематология и переливание крови

В соответствии с пунктом 42 главы 6 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоения ученых званий», утвержденного Указом Президента Республики Беларусь 17.11. 2004 № 560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь 02.06.2022 №190), пунктами 38, 44, 45 «Положения о совете по защите диссертаций», утвержденного Постановлением Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь 22.02.2005 №19 (в редакции постановления Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь 19.08.2022 №2), на основании решения совета по защите диссертаций Д 03.11.01 при государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» от 29.12.2023 г. в соответствии с приказом директора государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологий» (далее – РНПЦ ДОГИ) от 12.03.2024 г. № 1.1-4/61, проведено расширенное заседание Ученого совета РНПЦ ДОГИ (протокол №3) с участием врачей клинических отделений, сотрудников лабораторий клинических исследований, иммунологических исследований, биотехнологий и цитотерапии, генетических биотехнологий, молекулярно-генетических исследований научного отдела РНПЦ ДОГИ по обсуждению диссертации Мицура Екатерины Федоровны «Наследственный сфероцитоз у детей: морфофункциональные характеристики эритроцитов и новые аспекты лабораторной диагностики», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Председатель научного собрания: заместитель директора по науке РНПЦ ДОГИ, к.б.н., доцент Михаил Владимирович Белевцев.

Эксперт по диссертации: ведущий научный сотрудник лаборатории клинических исследований научного отдела РНПЦ ДОГИ, к.м.н., доцент Татьяна Алексеевна Углова.

Секретарь: ученый секретарь РНПЦ ДОГИ Ольга Сергеевна Вшивкова.

Заседание состоялось 26 марта 2024 года в 12.00. На заседании присутствовало 26 человек, из них: докторов наук – 2, кандидатов медицинских наук – 9, кандидатов биологических наук – 5, без степени – 10.

На научном собрании Е.Ф. Мицура представила доклад по диссертации, содержащий основные результаты исследований. Соискателю заданы вопросы, на которые получены полные ответы. Диссертация выполнена под научным руководством кандидата медицинских наук, доцента кафедры детской онкологии, гематологии и иммунологии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» (в настоящее время Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения УО «Белорусский государственный медицинский университет») Людмилы Ивановны Волковой.

В выступлении эксперта по диссертации Т.А. Угловой, ведущего научного сотрудника лаборатории клинических исследований научного отдела, к.м.н., доцента были изложены основные положения проекта отзыва диссертации, в котором отражены следующие разделы.

Актуальность

Наследственный сфероцитоз является наиболее распространенным типом наследственных гемолитических анемий. Однако до настоящего времени отсутствуют сведения о заболеваемости и распространенности этого заболевания в Республике Беларусь. Разнообразные клинические проявления, спорадичность терапии, малая информативность классического метода диагностики осмотической резистентности эритроцитов в раннем постнатальном периоде жизни обуславливают необходимость разработки новых высоко информативных подходов к диагностике наследственного сфероцитоза на всех этапах оказания медицинской помощи. В этой связи, диссертационная работа Е.Ф. Мицура представляется актуальной с научной точки зрения и имеет большое прикладное значение в практическом здравоохранении.

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

Диссертация Мицура Екатерины Федоровны на тему «Наследственный сфероцитоз у детей: морфофункциональные характеристики эритроцитов и новые аспекты лабораторной диагностики» по своему названию, цели, задачам, положениям, выносимым на защиту, содержанию, результатам исследования и заключению полностью соответствует специальности

14.01.21 – гематология и переливание крови, отрасли «Медицинские науки» и профилю Совета Д 03.11.01 по защите диссертаций при Государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий».

Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости

Научный вклад диссертанта в решение научной задачи подтверждается представленными в работе результатами. Так, впервые проведен анализ заболеваемости и структуры гемолитических анемий у детей в Республике Беларусь, установлена распространенность наследственного сфероцитоза в детской популяции.

Впервые автором определены пороговые значения дополнительных гематологических показателей для детей разных возрастных групп, которые могут быть использованы для диагностики наследственного сфероцитоза.

С помощью атомно-силовой микроскопии у детей с наследственным сфероцитозом выявлена неоднородность структуры мембранного цитоскелета эритроцитов и изменение ее степени, связанное с процессом трансформации дискоцитов в сфероциты.

Обосновано применение метода определения осмотической резистентности эритроцитов с использованием проточной цитометрии в клинической практике Республики Беларусь, который является более объективным и чувствительным по отношению к существующей методике, рассчитаны референтные интервалы для интерпретации полученных результатов.

Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень

На основании результатов выполненных исследований в соответствии с положениями, выносимыми на защиту, получены результаты, представляющие научную ценность, а именно:

1. Впервые в Республике Беларусь установлено, что средняя заболеваемость детей гемолитическими анемиями за период с 2005 по 2020 гг. составила 1,79 на 100 тыс. детского населения без значимого изменения динамики роста, а впервые выявленные случаи гемолитических анемий регистрируются преимущественно у детей первого года жизни (69,6%). Наследственный сфероцитоз составляет 50,4% в структуре впервые выявленных гемолитических анемий, его распространенность в Беларуси – 8,18 на 100 тыс. детского населения.

2. Доказано, что соотношения концентрации гемоглобина, гематокрита и эритроцитарных индексов ($MCHC/Ht$, $Hb/MCHC$, Hb/RDW , $MCHC/MCV$ и $MCHC/RDW$) являются индикаторами наследственного сфероцитоза у детей всех возрастных групп. Впервые установлено, что у

детей первого года жизни значения $MCHC/Ht > 1,06$, $Hb/MCHC \leq 3,11$, $Hb/RDW \leq 7,26$, $MCHC/MCV > 0,45$, $MCHC/RDW \leq 2,04$ являются диагностически значимыми. У детей старше 1 года значимыми являются $Hb/RDW \leq 9,69$; $MCHC/RDW \leq 2,49$; $Hb/MCHC \leq 3,65$; $MCHC/Ht > 0,96$; $MCHC/MCV > 0,44$.

3. Впервые показано, что у пациентов детского возраста с наследственным сфероцитозом мембранный скелет эритроцитов обладает неоднородностью пространственной организации, степень которой 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 при атомно-силовой микроскопии.

4. Впервые установлено, что при наследственном сфероцитозе у пациентов детского возраста снижается способность плазмы крови к подавлению люминолзависимой хемилюминесценции радикалообразующей смеси (36% vs 52% у здоровых лиц, $p < 0,0001$), что отражает снижение активности антиоксидантной системы и наличие умеренно выраженного оксидативного стресса, коррелирующего со степенью тяжести заболевания.

5. Впервые показано, что определение осмотической резистентности эритроцитов (нативных и после 24-часовой инкубации) с оценкой доли сохранных клеток в различных концентрациях солевого буфера с помощью проточной цитометрии является эффективным методом диагностики наследственного сфероцитоза (диагностическая чувствительность 93,9% и специфичность 83,3%).

6. Установлены диагностически значимые уровни отношения средней интенсивности флюоресценции (СИФ) исследуемой пробы в тесте связывания эозин-5 малеимида к среднему значению СИФ контрольных образцов: при значении $\leq 0,79$ соответствует чувствительности теста 100% и специфичности – 98,6%.

Научная значимость результатов диссертации подтверждается опубликованием полученных результатов в отечественных и зарубежных научных изданиях.

Представленную работу отличает ее большая практическая направленность. Автором улучшены подходы к клинико-лабораторной диагностике наследственного сфероцитоза у детей.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Анализ содержания диссертации и автореферата, опубликованных работ, приложений, презентации результатов исследований на конференциях и съездах, а также специальность и квалификация соискателя (врач-детский онколог-гематолог первой квалификационной категории), позволяют заключить, что Мицура Е.Ф. является квалифицированным научным работником, способным глубоко осмысливать, анализировать предмет

исследования, грамотно обрабатывать и интерпретировать полученные результаты и литературные сведения, формулировать обоснованные выводы и заключения. Диссертант полностью соответствует требованиям, предъявляемым к соискателям ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Конкретные рекомендации по практическому применению результатов диссертации

Мицура Е. Ф. является автором инструкции по применению № 054-0620, утв. 16.12.2020 «Метод определения осмотической резистентности эритроцитов с использованием проточной цитометрии», которая предназначена для врачей-гематологов, врачей лабораторной диагностики и других врачей-специалистов. Метод позволяет быстрее и объективнее оценить осмотическую резистентность эритроцитов по сравнению с классическим методом.

Автором рекомендовано использование соотношения концентрации гемоглобина, гематокрита и эритроцитарных индексов для ранней диагностики наследственного сфероцитоза в практике педиатра. О высокой вероятности наследственного сфероцитоза у детей первого года жизни свидетельствуют значения $MCHC/Ht > 1,06$, $Hb/MCHC \leq 3,11$, $Hb/RDW \leq 7,26$, $MCHC/MCV > 0,45$; для детей старше 1 года – $Hb/RDW \leq 9,69$; $MCHC/RDW \leq 2,49$; $Hb/MCHC \leq 3,65$; $MCHC/Ht > 0,96$; $MCHC/MCV > 0,44$.

Предложено использовать в качестве дополнительного маркера тяжести заболевания способность плазмы пациентов с наследственным сфероцитозом к подавлению люминолзависимой хемилюминесценции, что является обоснованием применения антиоксидантов для лечения НС, особенно при тяжелой степени тяжести заболевания.

Автором на основании собственных данных был разработан алгоритм диагностики гемолитических анемий у детей для всех уровней оказания медицинской помощи в Республике Беларусь.

Результаты диссертации могут быть использованы в практической деятельности врачами педиатрами, гематологами, специалистами в области лабораторной диагностики, а также в обучении аспирантов и студентов медицинских вузов.

Результаты исследования внедрены в работу РНПЦ ДОГИ, ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», 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 «Бел МАПО» (в настоящее время – ИПК и ПКЗ БГМУ).

Вопросы и замечания по диссертационной работе:

1. Целесообразно было бы указать в диссертационной работе и в алгоритме, количество показателей $MCHC/Ht$, $Hb/MCHC$, Hb/RDW ,

MCHC/MCV и MCHC/RDW, необходимых для диагностики наследственного сфероцитоза у детей, в частности, достаточно одного какого-либо или обязательно наличие всех.

2. Некорректно сравнивать показатели MCHC/Ht, Hb/MCHC, Hb/RDW пациентов с наследственным сфероцитозом и «здоровыми» детьми.

3. Почему в предлагаемом алгоритме диагностики наследственного сфероцитоза отсутствует тест связывания с эозин-5 малеимидом (ЕМА)?

Указанные вопросы и замечания касаются лишь отдельных аспектов работы и не влияют на общую высокую оценку диссертационного исследования.

Заключение

Диссертация Мицура Екатерины Федоровны «Наследственный сфероцитоз у детей: морфофункциональные характеристики эритроцитов и новые аспекты лабораторной диагностики», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови, является самостоятельно выполненным, законченным квалификационным научным исследованием, актуальным для практического здравоохранения. Работа посвящена совершенствованию средств диагностики наследственного сфероцитоза, основанному на изучении клинко-лабораторных параметров заболевания. Диссертация содержит современные научно-обоснованные результаты, совокупность которых является этапным достижением в развитии специальности «гематология и переливание крови».

Работа Е.Ф. Мицура по своей научной новизне и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пункты 20–21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь № 560 от 17.11.2004 г. (в редакции Указа Президента Республики Беларусь 02.06.2022 № 190)), а соискатель достоин искомой степени.

Ученая степень кандидата медицинских наук Мицура Е.Ф. может быть присуждена за:

- анализ динамики заболеваемости и структуры гемолитических анемий у детей в Республике Беларусь на популяционном уровне;
- доказательство диагностической ценности таких показателей гемограммы, как соотношения концентрации гемоглобина, гематокрита и эритроцитарных индексов (MCHC/Ht, Hb/MCHC, Hb/RDW, MCHC/MCV и MCHC/RDW) и установление их пороговых значений у детей с наследственным сфероцитозом различных возрастных групп;
- установление различий нано- и микроархитектоники и механических свойства поверхности дискоцитов и сфероцитов при наследственном сфероцитозе у детей;

– обоснование и внедрение в практическое здравоохранение метода определения осмотической резистентности эритроцитов с использованием проточной цитофлуориметрии с оценкой доли сохранных клеток в различных концентрациях солевого буфера, а также установление референтных интервалов;

– установление взаимосвязи показателей про/антиоксидантной системы в плазме крови пациентов с наследственным сфероцитозом методом люминолзависимой хемилюминесценции и тяжести течения заболевания.

Диссертация Мицура Екатерины Федоровны «Наследственный сфероцитоз у детей: морфофункциональные характеристики эритроцитов и новые аспекты лабораторной диагностики» по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови рекомендуется к защите в Совете по защите диссертаций Д 03.11.01 при государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий».

Отзыв обсужден и одобрен на расширенном заседании Ученого совета РНПЦ ДОГИ 26 марта 2024 г., протокол №3. Отзыв принят открытым голосованием среди членов заседания, имеющих ученые степени. В голосовании приняло участие 16 человек, в том числе докторов медицинских наук – 2, кандидатов медицинских наук – 9, кандидатов биологических наук – 5. Результаты голосования: «за» – 16, «против» – нет, «воздержались» – нет.

Председатель научного собрания –
заместитель директора по науке
РНПЦ ДОГИ, к.б.н., доцент

М.В. Белевцев

Эксперт –
ведущий научный сотрудник лаборатории
клинических исследований научного
отдела РНПЦ ДОГИ,
к.м.н., доцент

Т.А. Углова

Секретарь заседания –
ученый секретарь РНПЦ ДОГИ

О.С. Вшивкова

Подписи Белевцева М.В., Угловой Т.А., Вшивковой О.С. удостоверяю

Заведующий кадровым сектором



Макрицкая И.В.