

Отзыв официального оппонента

о диссертационной работе Гапоновой Татьяны Владимировны
«Стратегия формирования регистра доноров костного мозга с использованием
инфраструктуры службы крови», представленной на соискание
ученой степени доктора медицинских наук
по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Актуальность темы исследования

Трансплантация стволовых гемопоэтических клеток как метод лечения заболеваний, ранее считавшихся неизлечимыми, была предложена в середине прошлого столетия. С тех пор был накоплен большой клинический опыт по осуществлению данной процедуры. К настоящему моменту определены четкие показания для вида трансплантации, поскольку трансплантат может быть представлен как аутологичными стволовыми гемопоэтическими клетками, заготовленными от самого пациента, так и аллогенными, собранными от донора. Спектр заболеваний, при которых показана трансплантация исключительно донорских клеток, гораздо шире, чем для аутологичных, поэтому возможность подбора подходящего потенциального донора, которая напрямую зависит от величины регистра, крайне важна. Последнее десятилетие особую актуальность приобретает выполнение пересадки от родственного гаплоидентичного донора. Успешное применение гаплоидентичной трансплантации стало возможным благодаря различным методам посттрансплантационной профилактики реакции «трансплантат против хозяина», например, циклофосфамидом, или иммуномагнитной сепарации, в частности, деплеции α/β -Т-лимфоцитов памяти, что позволяет повысить иммунологическую толерантность трансплантата.

Однако, несмотря на очевидные преимущества, увеличение доли гаплоидентичных трансплантаций свидетельствует, в том числе, об ограниченных возможностях поиска неродственного совместимого донора в зарубежных и, особенно, в отечественных регистрах. Эти ограничения могут быть связаны не только с возможным отсутствием подходящего донора в регистре, но и со временем, необходимым для решения административно-хозяйственных вопросов:

получения согласия донора на повторное уточняющее HLA-типирование, медицинское обследование, транспортировку проб донора, проезд донора к месту выполнения медицинского обследования и непосредственно заготовки клеток. Также существенным ограничением трансплантации от гаплоидентичного донора является возможное отсутствие у взрослого пациента родителей, возраст и соматический статус которых позволяет осуществить донацию, или совершеннолетних детей, которые могут быть рассмотрены для него в качестве донора. Учитывая представленные данные, повышение численности регистра типированных доноров и повышение эффективности отечественного регистра являются крайне актуальными задачами.

Уменьшение доли трансплантаций, при которых заготовка клеток осуществляется методом эксфузии костного мозга, или источником этих клеток является пуповинная кровь – общемировая тенденция. Предпочтение все чаще отдается сбору гемопоэтических стволовых клеток крови, собранных после стимуляции. В связи с этим привлечение в регистр потенциальных доноров стволовых гемопоэтических клеток лиц, сдающих компоненты донорской крови на регулярной основе, имеет ряд преимуществ. Процедура заготовки трансплантата в случае сбора стволовых клеток крови протекает схоже с заготовкой компонентов донорской крови методом автоматического афереза. Поэтому донор, регулярно сдающий компоненты, лучше информирован о ходе процесса, что автоматически снижает вероятность немотивированного отказа от процедуры. Другим важным преимуществом пополнения регистра типированных доноров являются вступившие в силу обязательные требования к медицинскому обследованию доноров крови (приказ Минздрава России от 28 октября 2020 г. № 1166н), которые обеспечивают максимальное отведение от донорства инфицированных лиц, благодаря установленным требованиям к чувствительности наборов реагентов, ограничению максимально допустимого размера пула образцов при проведении обследования доноров на наличие молекулярных маркеров гемотрансмиссивных инфекций. Согласно этому документу, также предусматриваются случаи обязательного дополнительного обследования

доноров крови на наличие антител к ядерному антигену вируса гепатита В. Своевременное выявление и исключение инфицированных лиц из базы доноров крови и регистра типированных потенциальных доноров гемопоэтических клеток обеспечит повышение эффективности подбора пары донор – реципиент при выполнении трансплантации, поскольку на первом этапе подбора донора из поиска исключаются потенциальные доноры, имеющие медицинские противопоказания к донации.

Эффективный регистр типированных потенциальных доноров стволовых гемопоэтических клеток должен обеспечивать возможность подбора совместимого или частично совместимого неродственного донора не менее чем для 70 % пациентов, которым инициирован поиск, с учетом минимизации временных затрат на установление связи с потенциальным донором, получение его согласия и выполнение необходимого медицинского обследования и заготовки трансплантата. Таким образом, создание модели Федерального регистра типированных потенциальных доноров костного мозга и стволовых гемопоэтических клеток, типированных по 5 локусам генов системы HLA, с помощью инфраструктуры службы крови, безусловно, актуально.

Научная новизна и практическая ценность

Диссертантом Гапоновой Т.В. разработана модель Федерального регистра доноров костного мозга и стволовых гемопоэтических клеток, с расчетным оптимальным числом доноров, наполнение которого осуществляется с помощью организаций службы крови, во взаимодействии с трансплантационными центрами. Такая модель предложена впервые. Также впервые сформирован алгоритм медицинского обследования доноров костного мозга для включения в регистр и впервые определена эффективность привлечения доноров костного мозга из числа первичных и повторных доноров крови.

Теоретическая и практическая значимость исследования

В практическую деятельность ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (НМИЦ гематологии) был внедрен прототип Федерального регистра типированных потенциальных доноров костного мозга и стволовых

гемопоетических клеток, полностью обеспечивающего потребности в выполнении трансплантации от неродственных полностью совместимых доноров.

Определен минимальный размер регистра, исходя из регулярно обновляющейся информации о донорах. Разработаны и предложены критерии включения в регистр повторных доноров крови и её компонентов.

Благодаря оценке разнообразия гаплотипов доноров регистра, показаны существенные различия частот их встречаемости в различных субъектах Российской Федерации. Показано, что в некоторых субъектах России подбор доноров может быть по разным причинам затруднен.

Предложена математическая модель регистра, позволяющая оценить вероятность подбора пары донор – реципиент при известной частоте встречаемости гаплотипов. Показано, что увеличение числа типированных доноров больше 1 млн лиц не дает существенного прироста вероятности подбора пары, при сохранении представленного разнообразия гаплотипов.

Полнота изложения основных результатов диссертационной работы в научной печати

По теме диссертации опубликовано 47 научных работ, в том числе 1 монография, 2 патента, 1 свидетельство о регистрации программы для ЭВМ и 17 статей в научных журналах и изданиях, включённых в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 13 статей в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования Scopus.

Основные положения и фрагменты диссертации были доложены на 14 международных и российских научных мероприятиях.

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Фундаментальные и клинические исследования в гематологии; проблемы клинической и производственной трансфузиологии» НМИЦ гематологии (протокол № 5 от 18.07.2022).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы НМИЦ гематологии по теме: «Совершенствование различных видов трансплантации гемопоэтических клеток и разработка новых подходов профилактики и терапии посттрансплантационных осложнений», номер государственной регистрации РК АААА-А19-119013190143-3.

Структура, содержание и оценка диссертационной работы в целом, замечания по оформлению

Диссертация изложена на 426 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы, содержащей результаты собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложений. Список литературы представлен 143 источниками, из которых 71 – в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 50 таблиц и 88 рисунков.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы, формулирует цель и задачи, научную новизну, практическую значимость исследования.

В обзоре литературы освещена организация донорства крови и (или) её компонентов в мире и в Российской Федерации. Убедительно описана важность безвозмездного донорства как аспекта национальной политики в области здравоохранения и национальной безопасности. Убедительно показаны различия в частоте и числе донаций в странах с высоким, средним и низким уровнем доходов населения. Представлены данные о гендерном и возрастном профиле доноров и другие популяционные аспекты донорской популяции в мире и РФ; изложены сведения о скрининге на наличие иммунологических маркеров возбудителей инфекций с парентеральным путем передачи и сифилиса, особенностях обеспечения инфекционной безопасности заготовки компонентов донорской крови в России и за рубежом. Охарактеризована структура отводов от донорства в связи с выявлением маркеров инфекций у доноров крови и её компонентов. Приводится нормативно-правовая документация,

регламентирующая работу службы крови Российской Федерации и других странах.

В отдельном разделе представлена организация донорства костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток. Указан спектр нозологических форм, при которых показано выполнение трансплантации и её вид (аутологичных или аллогенных стволовых клеток). Автор отмечает, что вместе с увеличением потребности в поиске неродственных доноров и развитием регистров неродственных доноров совершенствуются методы трансплантации и растёт число выполненных аллогенных трансплантаций в мире. В работе убедительно показано, что одним из главных условий успешного проведения аллогенной трансплантации является своевременный выбор оптимального донора. Также автор перечисляет и характеризует локальные регистры потенциальных доноров костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток Российской Федерации, подключенные к базе BMDS, основную информацию, содержащуюся о донорах в рамках регистров. В диссертации подробно рассмотрены стратегии привлечения потенциальных доноров в регистры и причины незавершенных активаций доноров, предварительно подобранных для пациента. Выявлены современные лабораторные методы, используемые для первичного и подтверждающего типирования потенциальных и подобранных доноров гемопоэтических клеток. В качестве наиболее востребованной технологии, применяемой для подобных задач, указывается так называемая технология секвенирования нового поколения (NGS, next generation sequence). В Российской Федерации для первичного типирования применяют следующие технологии: SSP, SSO, секвенирование методом Сенгера (SBT) и NGS. В отдельных разделах диссертационной работы дана краткая характеристика регистров доноров костного мозга зарубежных стран, таких как США, Польша, Германия, Израиль.

Автором проанализирована потребность в трансплантации аллогенного костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток на примере регистра EBMT. Также анализу подверглись результаты трансплантации от полностью и частично

совместимых неродственных доноров костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток по данным мировой литературы.

Всесторонне описана организация работ по забору, хранению и транспортировке гемопоэтических стволовых клеток, перечислены мероприятия по извлечению КМ и ГСК донора и их последующую обработку, направленную на формирование оптимальных функциональных характеристик трансплантата, описаны этапы заготовки трансплантата.

Глава, посвященная материалам и методам, написана детально, дает исчерпывающее представление обо всех использованных методах математического моделирования, лабораторных методик, среди которых были иммунохимический и иммуноферментный анализ, молекулярно-биологическое исследование на наличие нуклеиновых кислот возбудителей гемотрансмиссивных инфекций, HLA-генотипирование в низком и высоком разрешении; статистического анализа: охарактеризованы доноры и пациенты, включенные в исследование.

Результаты исследования изложены подробно и исчерпывающе. Показаны четкие тенденции в динамике популяционных показателей как доноров крови и её компонентов, зарегистрированных в отделе переливания крови НМИЦ гематологии и во всей Российской Федерации, так и донаций, осуществленных ими за последние несколько лет. Показана эффективность стратегии рекрутирования потенциальных доноров стволовых гемопоэтических клеток среди лиц, регулярно сдающих компоненты крови. Представлены результаты анализа характеристик доноров крови, вступивших в регистр. Дана полная характеристика доноров крови Российской Федерации как целевой группы для формирования регистра. Тщательно проанализирована инцидентность выявления гемотрансмиссивных инфекций у первичных и повторных доноров с 2016 по 2020 год в НМИЦ гематологии и в России. Общая инцидентность ГТИ за 5 лет снизилась в 3 раза, что связано в большей степени с внедрением в НМИЦ гематологии обязательного тестирования на антитела к ядерному антигену вируса гепатита В (а-НВс) и, соответственно, снижением инцидентности вирусного

гепатита В (ВГВ) – более чем в 5 раз за 5 лет (с 427,05 случаев на 100 тыс. населения до 94,9). Снижение, хотя и не достоверное, отмечено и для инцидентности вирусного гепатита С (ВГС) и инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Инцидентность сифилиса за 5 лет, наоборот, достоверно возросла с 69,35 до 142,35, то есть более чем в 2 раза ($p < 0,0049$). Научную оценку получили отводы по инфекционным и неинфекционным причинам среди доноров на территории Российской Федерации. Создана тепловая карта, демонстрирующая частоту выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций у повторных доноров крови в субъектах Российской Федерации. В нескольких субъектах РФ определена частота выявления а-НВс среди доноров крови и её компонентов. Проведено сравнение первичных и повторных доноров. Также автором проанализировано клиническое использование компонентов донорской крови, выявлено распределение компонентов, не востребованных клиническими подразделениями.

В работе Гапоновой Т.В. проведен анализ частот встречаемости аллельных групп генов HLA и гаплотипов потенциальных доноров из различных субъектов Российской Федерации. Созданы Тепловая карта и дендрограмма распределения частот встречаемости групп аллелей локусов HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1 у доноров, привлеченных из различных субъектов Российской Федерации. Обосновано наблюдение о том, что для обеспечения потребности в трансплантации по всей территории Российской Федерации регистр должен включать большое число доноров различных этнических групп. Убедительно показано, что при планировании наполнения Федерального регистра необходимо учитывать место жительства пациентов, нуждающихся в трансплантации, для того, чтобы именно из этих субъектов Российской Федерации в первую очередь привлекать достаточное число потенциальных доноров.

Оценена эффективность подбора доноров для пациентов НМИЦ гематологии в BMDS. Определено оптимальное число доноров при предварительном поиске в BMDS и числа запросов в локальные регистры РФ. Даны характеристики частот встречаемости аллельных групп и гаплотипов гена

HLA у пациентов НМИЦ гематологии, включенных в исследование. Показано, что систематический анализ этнических групп пациентов, нуждающихся в выполнении трансплантации с системным привлечением потенциальных доноров из этих регионов, позволит при меньшей численности Федерального регистра обеспечить максимально эффективный подбор пар донор-реципиент для выполнения трансплантации.

Автором разработаны алгоритмы формирования модельных регистров доноров костного мозга на основании частот распределения гаплотипов, позволяющие оценить вероятность подбора полностью совместимого донора (10 из 10 аллельных групп) и частично совместимого донора (9 из 10, 8 из 10 аллельных групп). Созданный алгоритм дает возможность формировать различные модельные регистры, используя опубликованные в открытом доступе данные о частотах распределения гаплотипов.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Гапоновой Татьяны Владимировны «Стратегия формирования регистра доноров костного мозга с использованием инфраструктуры службы крови», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови, выполненная при научном консультировании доктора медицинских наук Паровичниковой Елены Николаевны, является логически законченным научно-квалификационным трудом, выполненным на высоком научном и методологическом уровне, в котором решена актуальная проблема создания модели Федерального регистра типированных потенциальных доноров костного мозга и стволовых гемопоэтических клеток с использованием инфраструктуры службы крови Российской Федерации, что имеет важное значение для практической гематологии, трансплантационной медицины, эпидемиологического надзора над инфекциями с парентеральным путем передачи среди доноров крови и её компонентов и пациентов с заболеваниями системы крови.

Диссертация соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335, от 10 ноября 2017 года № 1093 и от 20 марта 2021 года № 426), предъявляемым к диссертации на соискание учёной степени доктора наук, а её автор, Гапонова Татьяна Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Главный научный сотрудник отделения
высокодозной химиотерапии с блоком
трансплантации костного мозга МНИОИ им.
П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ
радиологии» Минздрава России, доктор
медицинских наук (шифр 3.1.28 – гематология и
переливание крови), профессор кафедры
онкологии, гематологии и лучевой терапии
педиатрического факультета ФГАОУ ВО
«РНИМУ им. Пирогова» Минздрава России

Семочкин С.В.

31.10.2022

Подпись Семочкина Сергея Вячеславовича заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ радиологии»
Минздрава России



Жарова Е.П.

125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3, тел./факс: +7 (495) 945-80-20,
Email: mnioi@mail.ru <https://www.mnioi.nmict.ru>