

## Отзыв

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора кафедры гематологии, трансфузиологии, трансплантологии с курсом детской онкологии ФПО им.проф. Б. В. Афанасьева ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Зубаровской Людмилы Степановны на диссертационную работу Корсаковой Наталии Евгеньевны на тему «Особенности протромботических изменений в системе гемостаза при РН-негативных миелопролиферативных новообразованиях», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.21 (3.1.28) – гематология и переливание крови

## Актуальность темы исследования

Частота возникновения тромбозов у пациентов с Ph(-) миелопролиферативными новообразованиями (МПН) колеблется от 20% до 69%, что является фактором риска преждевременной летальности. Внутри этой группы риск развития тромботических осложнений – артериального и венозного тромбоза – существенно выше у пациентов с истинной полицитемией (ИП), эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ), в наименьшей степени – при первичном миелофиброзе (ПМФ). Факторами риска тромботических осложнений являются возраст >60 лет, наличие тромбозов в анамнезе, гипертензия, сахарный диабет, а также уровень лейкоцитов  $> 11,0 \times 10^9/\text{л}$ , выявление мутации *JAK2V617F*. Несмотря на многочисленные изучения этого

осложнения, актуальность более глубокого понимания проблемы не снижается. Риск развития тромбоза зависит от состояния сосудистого эндотелия, который представляет собой гетерогенную структуру и, являясь активной метаболической системой, опосредует воспалительные и иммунные процессы, регулирует адгезию лейкоцитов. Проявления дисфункции эндотелия, направленность и выраженность этих изменений могут различаться в зависимости от заболевания.

Сложность изучения системных, но не локальных процессов, связана с многофакторными причинами, приводящими к их развитию, что в полной мере относится к изучению тромбообразования при Ph(-) миелопролиферативных новообразованиях. В настоящее время не существует рекомендаций по выявлению групп риска, мониторингу и подходам к диагностике и терапии тромбозов при Ph(-) миелопролиферативных новообразованиях на основании комплексных подходов исследования. Своевременная диагностика патологического состояния системы гемостаза, чрезвычайно актуальна и будет способствовать повышению эффективности терапии ИП, ЭТ и ПМФ, особенно, на фоне применения новых, таргетных препаратов.

**Цель** исследования поставлена чётко, это – установить особенности протромботической направленности системы гемостаза у пациентов с Ph(-) миелопролиферативными неоплазиями, что позволило автору конкретно сформулировать задачи исследования.

**Задачи** исследования конкретны, что позволяет в широком объёме оценить состояние гемостаза у пациентов данной группы.

## **Значимость для науки и практики результатов диссертации и конкретные пути их использования**

Научная новизна работы представлена данными по оценке степени нарушения гемостатического баланса на основе индекса коагуляции, определяемого по параметрам теста генерации тромбоцитов. Впервые показано, что для данной категории пациентов характерно увеличение активности антитромбина, выявлена взаимосвязь мутации *JAK2V617F* с активностью естественных антикоагулянтов, приводящая к снижению активности антитромбина у *JAK2V617F*-позитивных больных относительно значений носителей аллелей дикого типа, выявлена обратная корреляционная зависимость между уровнем фактора Виллебранта и растворимого тромбомодулина с активностью протеина С и чувствительностью к тромбомодулину. Показано, что терапия таргетными препаратами способствует усугублению прокоагулянтных свойств системы гемостаза и эндотелия.

**Практическая значимость** не вызывает сомнения. Комплексная оценка системы гемостаза у пациентов с Ph(-) миелопролиферативными новообразованиями, характеризующая особенности протомботической направленности системы гемостаза, позволит оценить данные изменения с точки зрения персонифицированных рекомендаций при лечении пациентов таргетными препаратами, особенно при наличии *JAK2V617F* мутации.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна**

Степень достоверности проведенных исследований основана на

репрезентативной выборке пациентов, включенных в исследование, а также на использовании адекватных сформулированным цели и задачам разнообразных современных методах статистической обработки полученных данных. Обсуждение результатов исследования было представлено на ключевых отечественных и мировых конгрессах и научно-практических конференциях, а также публикациях в реферируемых изданиях, что подтверждает новизну и достоверность.

По теме диссертации опубликовано 32 печатные работы, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах, из них 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

#### **Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом, замечания по оформлению**

Диссертационная работа Корсаковой Н.Е. построена по классическому типу, изложена на 153 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы содержит 217 источников, в том числе 13 отечественных и 204 зарубежных. Работа иллюстрирована 56 таблицами и 5 рисунками.

Во введении представлена актуальность проблемы и степень разработанности темы исследования, чётко сформулированы цель и задачи исследования, основные положения, выносимые на защиту, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, степень достоверности и апробация результатов.

Обзор литературы ёмкий, написан хорошим литературным языком, содержит анализ современных публикаций по тематике диссертации.

Даны современные представления о сути исследуемых заболеваний – ИП, ЭТ, ПМФ. Отдельно оценены тромбозы при данных состояниях, особенности их клинических проявлений, а также молекулярно-генетические механизмы развития, особенности мутационного статуса. Детально рассмотрены современные представления о состоянии плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, роли эндотелия сосудов.

Во второй главе «Материалы и методы исследования» автором представлены данные о пациентах, включенных в исследование. Это - 124 пациента с Ph-негативными МПН, из них с эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ) – 36 пациентов, истинной полицитемией (ИП) – 47 пациентов, первичным миелофиброзом (ПМФ) – 41 больной, средний возраст которых составил 55 лет.

Тромботические осложнения имели 25% (31 пациент) – 33,3%, 29,8%, и 12,2%, соответственно. Для адекватной оценки показателей нарушения свертываемости использовали современные методы – определение параметров скрининговой коагулограммы, тест генерации тромбина (ТГТ), определение ристоцетин-кофакторной активности фактора Виллебранда, оценку функциональной активности тромбоцитов, определение концентрации растворимого тромбомодулина (sTM). Неинвазивное исследование эндотелиальной функции осуществляли методом периферической артериальной тонометрии (PAT).

Определение наличия и аллельной нагрузки мутации JAK2V617F проводили методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции у 92 пациентов (74,2%) – ЭТ-69,4%, ИП -91,5%, ПМФ- 58,5%.

Статистическую обработку данных осуществлена с помощью современных статистических программ, применяемых в научных

исследованиях биологических систем.

Глава 3 разделена на несколько частей, где последовательно представлены результаты по нескольким направлениям.

Исследования плазменного звена гемостаза у пациентов с Ph(-) миелопролиферативными неоплазиями. При анализе данных установлены разнонаправленные изменения показателей плазменного звена гемостаз, что свидетельствует о наличии протромботических изменений, приводящих к нарушению гемостатического баланса у данной категории пациентов.

Так, в общей группе пациентов с Ph(-)миелопролиферативными неоплазиями индекс АПТВ и протромбиновый тест (ПТ) сдвинут в сторону гипокоагуляции, в то время как уровень фибриногена и фактора VIII – в сторону гиперкоагуляции. Отмечена прямая корреляция между показателями фVIII и фибриногеном, что свидетельствует, по мнению автора, о выраженности воспалительного процесса и является фактором риска тромботических осложнений. Сходные, но не равнозначные данные были получены при анализе в отдельных нозологических группах. Так, у пациентов с ЭТ выявлено меньшее количество изменений по сравнению с контролем, чем у пациентов с ИП. Наибольшее количество изменений выявлено у пациентов с ПМФ. В тоже время, во всех группах пациентов выявлена высокая активность антитромбина (АТ) и низкая активность протромбина С (ПС).

Было изучено особое значение мутации *JAK2V617F*, как фактора риска тромбоза при Ph(-) МПН. Показано, что данный фактор оказал значимое влияние на уровень АТ, значение которого были ниже в общей группе пациентов по сравнению с контрольной группой.

В исследовании показано, что наличие тромбозов в анамнезе приводило к более выраженному повышению протромботических

факторов.

При анализе влияния терапии пациентов с Ph(-) МПН на параметры плазменного звена гемостаза отмечено, что существенное отклонение от контрольных показателей чаще встречалось у больных при проведении цитостатической и антиагрегантной терапии, что сопровождалось повышением уровня фибриногена и АТ, а также снижением скорости генерации и максимальной концентрации тромбина. Особенно важно подчеркнуть, что при проведении терапии руксолитинибом у пациентов с ПМФ отмечали значимый рост концентрации фибриногена.

Тем не менее, при оценке показателей плазменного звена гемостаза обращает внимание сложность и неоднозначность в интерпретации изменений. Для оценки направленности изменений автором предложен расчетный показатель – индекс коагуляции, что позволяет определить отношение про- и антикоагулянтов у конкретного пациента и осуществить персонализированный подход к интерпретации результатов.

При исследовании тромбоцитарного звена гемостаза выявлено, что пациенты с Ph(-) МПН, не получавшие медикаментозной терапии имели значительное снижение показателей агрегации под действием АДФ в низких дозах, что может свидетельствовать о неполноценности рецепторного аппарата тромбоцитов.

Особого внимания заслуживает раздел, посвященный оценке эндотелиальной дисфункции у пациентов с Ph(-) МПН.

Дисфункция эндотелия (ДЭ) – стойкое изменение структуры и/или функциональной активности эндотелия, приводящее к нарушению регуляции сосудистого тонуса, тромбозу и другим осложнениям, развитие которой возникает при многих патологических состояниях.

В данной работе ДЭ оценивали путем определения в плазме маркеров, образующихся в эндотелии и участвующих в гемостазе. Это – фактор Виллебранда (фВ) и растворимый тромбомодулин (sTM). Было выявлено значительное повышение фВ у пациентов с Ph(-) МПН, которое было ассоциировано с протромботическими изменениями плазменного звена гемостаза – фVIII и фВ. Наиболее выраженный рост фВ отмечали у пациентов с тромбозами в анамнезе. Мутационный статус *JAK2V617F* не оказывал влияние на изменение данного параметра, но при увеличении аллельной нагрузки у пациентов с ИП выявлена прямая корреляционная зависимость с содержанием фВ. Также у больных с ПМФ, получавших циторедуктивную терапию, этот показатель был повышен.

В дополнение выполнен анализ изменений уровня sTM и оценка эндотелия методом периферической артериальной тонометрии (ПАТ),

При рассмотрении отдельных нозологических групп дисфункция эндотелия наиболее выражана у пациентов с ИП (47%), в меньшей степени при ЭТ (31,8%) и ПМФ (30,0%).

В главе «Заключение» соискатель обобщает и анализирует полученные результаты, сравнивает их с данными литературы.

Выводы хорошо сформулированы, полностью соответствуют поставленным целям и задачам.

Диссертация написана литературным языком, хорошо иллюстрирована. Основные положения диссертационного исследования изложены в автореферате на 23 страницах машинописного текста, дополненного иллюстрациями в виде таблиц и рисунков. В автореферате в сжатой форме отражены основные результаты исследования, обоснованы ключевые положения и выводы работы. Содержание автореферата соответствует сути диссертационного

исследования.

Личный вклад автора не вызывает сомнения.

Ввиду сложности интерпретации данных, касающихся состояния гемостаза у пациентов с Ph(-) МПН и рамках дискуссии хотелось бы задать следующие вопросы:

1. Пациенты с ИП и ЭТ достаточно часто получают антиагреганты с целью профилактики развития тромбозов. Как Вы считаете, на какие параметры системы гемостаза стоит в первую очередь ориентироваться при их назначении и контроле при проведении лечения.
2. Для выявления ДЭ считаете ли Вы достаточным определение фВ, sTM и РАТ и какие другие методы могут быть дополнением в оценке состояния эндотелия ?

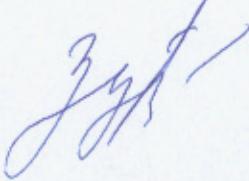
#### Заключение

Таким образом, диссертационная работа Корсаковой Наталии Евгеньевны «Особенности протромботических изменений в системе гемостаза при РН-негативных миелопролиферативных новообразованиях», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 14.01.21 – гематология и переливание крови является законченным научно-квалификационным трудом, в котором решена актуальная поставленная задача по установлению особенностей системы гемостаза у пациентов с Ph(-) миелопролиферативными новообразованиями. Диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013г. (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21 апреля 2016г., №1168 от 01 октября

2018г.), а ее автор Корсакова Наталия Евгеньевна заслуживает присуждения искомой степени по специальностям 3.1.28 - гематология и переливание крови (14.01.21).

Официальный оппонент:

Заместитель директора по трансплантации – врач-гематолог клиники научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, руководитель отдела детской онкологии, гематологии и трансплантологии научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, профессор кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета послевузовского образования имени профессора Б.В.Афанасьева, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им.акад. И.П. Павлова» Минздрава России д.м.н., профессор (14.00.29 – Гематология и переливание крови, 14.00.09 – Педиатрия)

 Зубаровская Л.С.



Контактные данные:

197022, г.Санкт-Петербург, ул.Льва Толстого, д.6-8

Контактный телефон: (812) 338- 62-62

Эл. адрес: zubarovskaya\_ls@mail.ru