

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации, руководителя научных исследований Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» **Бессмельцева Станислава Семеновича** на диссертационную работу **Габрильчак Анастасии Ивановны** «Клинико-лабораторные предикторы хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры», представленную в диссертационный совет 04.1.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС РФ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

### Актуальность темы диссертационного исследования

Заболеваемость иммунной тромбоцитопенией в мире варьирует от 1,6 до 12,5 случаев на 100 тыс. населения в год, а в Российской Федерации в среднем составляет 2,09/100 тыс. человек. ИТП не имеет географических особенностей. По данным эпидемиологического исследования в России (2014—2017 гг.) геморрагический синдром разной степени тяжести зарегистрирован у 76,6% больных. Наибольший интерес представляют пациенты с тяжелой формой ИТП, поскольку нуждаются в экстренной госпитализации и проведении неотложной терапии. Терапия 1-й линии впервые выявленной ИТП включает в себя глюкокортикостероиды и внутривенный иммуноглобулин человека. В случае отсутствия или потери ответа на терапию 1-й линии в качестве 2-й линии рекомендуется спленэктомия, а при персистирующей ИТП - спленэктомия и агонисты рецепторов тромбопоэтина.

В обновленных рекомендациях Американского гематологического общества и Международного консенсуса в принципах лечения взрослых пациентов с ИТП основополагающим является индивидуализированный подход. Важным является учет факторов риска: стадия заболевания, тяжесть тромбоцитопении, распространенность и тяжесть кровотечений, сопутствующие заболевания, применение антикоагулянтов или антитромбоцитарных препаратов, предстоящие оперативные вмешательства или иные процедуры, пол и возраст пациента, образ жизни, учитываются ожидания пациента. Анализ этих факторов помогает создать своеобразный портрет больного и позволяет врачу принять правильное решение. Современная парадигма лечения взрослых больных ИТП: ранний отказ от кортикостероидов, назначение агонистов рецепторов тромбопоэтина во второй линии, отсроченное выполнение спленэктомии. Чтобы следовать разработанной тактике лечения, возникает необходимость оценки риска хронизации течения ИТП, что затруднено в виду отсутствия данных в литературе.

В этой связи, актуальность сформулированной автором цели диссертационного исследования, посвященного выявлению лабораторных предикторов хронического течения ИТП, не вызывает сомнений.

Диссертантом в ходе выполнения диссертационной работы были поставлены и решены задачи по изучению морфофункциональных изменений мегакариоцитарно-тромбоцитарного звена гемопоэза. Немаловажным остается и возрастной фактор, многие показатели имеют отличающиеся уровни в разных возрастных категориях. Автор предоставила подробный блок

данных миелограммы и мегакариоцитогаммы у разных возрастных групп при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре.

**Достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Доказательность и достоверность полученных результатов достигнута за счет применения в качестве методологической и теоретической базы фундаментальных трудов в области клинической лабораторной диагностики; соответствия результатов современному уровню методик проведения исследований; и подтверждена значительным объемом фактических данных, использованных для решения поставленных цели и задач, было обследовано 272 человека, которые в дальнейшем находились под динамическим наблюдением в течение 6 лет, проведено ретроспективное сравнение параметров миелограммы, миелоплазмы и периферической крови с целью выявления предикторов хронического течения основного заболевания.

Положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, основаны на достоверных данных, не вызывают сомнений, являются их логическим обобщением, корректны и соответствуют поставленным задачам. Практические рекомендации структурированы и имеют адресный характер, нацелены на повышение качества лабораторной диагностики пациентов с тромбоцитопенией и оценку рисков хронизации ИТП.

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 3 в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень ВАК России для опубликования основных результатов диссертационных исследований, получен 1 патент.

Результаты диссертационного исследования и основные положения работы были неоднократно представлены и обсуждены на шести научных конференциях всероссийского уровня. Публикации полностью отражают основные результаты.

**Новизна и теоретическая значимость научных результатов**

Автором предложен преаналитический стандарт исследования интерстициальной жидкости костного мозга. Проведена валидация пяти биохимических методик (определение содержания железа, ферритина, трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина (sTfR) и активности аланинаминотрансферазы) для тестирования образцов миелоплазмы на основе линейности, правильности и аналитической специфичности. Определена диагностическая значимость исследования показателей миелоплазмы у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой, в том числе и с выделением характерных предикторов хронического течения. Получены новые данные, раскрывающие возрастные особенности морфофункциональных изменений мегакариоцитарно-тромбоцитарного звена гемопоэза при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре. На основе этих данных предложено разделение характерных изменений мегакариоцитогамм на 2 типа – детский и взрослый. На основе полученных сведений предложен диагностический алгоритм ведения пациентов с иммунной тромбоцитопенической пурпурой с выделением группы риска хронизации течения.

Представленные результаты, безусловно, имеют теоретическую значимость, поскольку вносят определенный вклад в изучение состава интерстициальной жидкости костного мозга, отражающей специфику взаимодействия клеток гемопоэза и клеток, формирующих их микроокружение, внутри ниш костного мозга.

### **Практическая значимость полученных результатов**

В рамках выполненной работы автором предложены новые подходы в описании мегакариоцитарного роста костного мозга при морфологическом исследовании, что повышает качество диагностического поиска при установлении причин тромбоцитопении.

Особенности биохимических, иммунологических и морфологических параметров костного мозга и периферической крови легли в основу прогностической модели при оценке риска развития хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры у взрослых, что может быть использовано при выборе линии лечения этих пациентов.

Основные положения диссертационного исследования внедрены в практическую деятельность клиничко-диагностических лабораторий и отделений гематологии и химиотерапии Клиник ФГБОУ ВО СамГМУ МЗ РФ, ГБУЗ СО «Тольяттинская городская клиническая больница №5», ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. В.Д. Середавина», ГБУЗ «Самарская областная детская клиническая больница им. Н.Н. Ивановой». Результаты, полученные в ходе работы над диссертационным исследованием, внедрены в курс обучения студентов института профилактической медицины, института педиатрии и института клинической медицины ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ.

### **Личное участие автора в разработке научной проблемы**

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Основная идея, планирование научной работы, включая формулировку научной гипотезы, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования, формулировка цели и задач, разработка дизайна исследования проводились совместно с научным руководителем. Анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, проведение лабораторных исследований, статистическая обработка первичных данных, написание и оформление рукописи диссертации проведены лично диссертантом.

### **Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», трех глав «Результатов собственных исследований», заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Общий объем диссертации составляет 201 лист машинописного текста, работа иллюстрирована 31 таблицей и 54 рисунками. Список литературы состоит из 307 источников, в том числе 15 отечественных и 292 зарубежных.

Введение посвящено обоснованию актуальности выполненного исследования, автор излагает цель и ставит задачи, в которых логично за счет их решения достигается цель исследования, формулирует научную новизну, определяет методологию и методы исследования, практическую значимость, выдвигает основные положения, выносимые на защиту, характеризует степень новизны и практического применения полученных новых сведений.

Обзор литературы содержит хорошо систематизированное отражение современных представлений об ИТП. Он разделен на три больших блока. В первом, представлены научные данные посвященные вопросу мегакариопоза, включая дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток в мегакариоцитарную линию, пролиферацию предшественников, созревание

мегакариоцитов и процесс тромбоцитобразования. Подробно уделено внимание микроокружению и процессу миграции в сосудистую нишу костного мозга. Второй блок обзора литературы посвящен жизненному циклу тромбоцита в периферической крови, а также факторам, влияющим на клиренс тромбоцитов. В третьем блоке описаны процессы, возникающие в центральном и периферическом звене при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре.

Особый интерес представляют данные об изучении нового биологического материала интерстициальной жидкости костного мозга (миелоплазмы), которых на данный момент мало.

В главе материалы и методы представлена характеристика обследованного контингента, описаны используемые методы лабораторных исследований и статистического анализа, представлены микрофотографии исследуемых препаратов костного мозга, проведена валидация биохимических методик исследования миелоплазмы. Дизайн исследования включает в себя этапы, соответствующие поставленным задачам. Клинический материал охарактеризован подробно, объем составил 272 пациента с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой и 39 больных с рефрактерной железодефицитной анемией в качестве группы сравнения. Данного материала достаточно для обстоятельного анализа полученных результатов и сделанных выводов. Следует отметить длительный динамический период наблюдения пациентов (6 лет) и тщательность проработки выборки пациентов для научного исследования: дана возрастная градация пациентов от 0 до 90 лет, при этом исследуемая группа разделена на 10 возрастных подгрупп, количество материала внутри которых достаточно для анализа.

В третьей главе (собственные исследования) автор представил данные об особенностях изменения показателей миелограммы у пациентов с ИТП. Дана подробная характеристика изменений мегакариоцитарного роста. Мегакариоцитограмма расширена в показателях, что позволило автору показать не только процесс созревания мегакариоцитов при ИТП, а еще изучить стадийность начала процесса тромбоцитобразования и появление явлений дисплазии. Проведен корреляционный анализ между тромбоцитарными индексами периферической крови и мегакариоцитограммой, что значительно повышает диагностическую значимость индексов анизоцитоза (PDW) и среднего объема тромбоцитов (MPV) в клинической практике.

В четвертой главе показано влияние возрастного и гендерного фактора на показатели костного мозга и периферической крови. Мегакариоцитограмма показала большую взаимосвязь с возрастным фактором, и автором было выделено два типа изменения мегакариоцитограмм: первый с преобладанием незрелых форм мегакариоцитов как «детский» тип и второй – с увеличением «голаядерных» и полихроматофильных» форм мегакариоцитов как «взрослый» тип.

Пятая глава посвящена изучению нового биоматериала интерстициальной жидкости костного мозга (миелоплазмы) и описанию изменений биохимического и цитокинового состава при ИТП. Автор дает сравнение миелоплазменных и плазменных уровней показателей обмена железа (уровень железа, трансферрина, растворимые рецепторы трансферрина, ферритина), аланинаминотрансферазы и цитокинов (интерлейкин-6, интерлейкин-8, эритропоэтин и фактор роста эндотелия сосудов). Были выявлены несколько предикторов хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры со значимым уровнем достоверности, а именно, более высокое отношение количества железа и ферритина миелоплазмы к плазме, более

низкое содержание интерлейкина-8 в плазме, как и уровень фактора роста эндотелия сосудов в интерстициальной жидкости костного мозга.

В заключении автор обобщает все приведенные выше главы, применяет ROC-анализ для оценки диагностической эффективности и порога отсечения выявленных предикторов хронического течения ИТП и применяет алгоритм «случайный лес» для построения дерева принятия решений, что позволило разработать алгоритм оценки риска развития хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры

Выводы диссертации научно обоснованы, базируются на анализе достаточного количества лабораторного и клинического материала, адекватны поставленной цели и задачам научной работы, что позволит в дальнейшем рекомендовать полученные данные к использованию в практическом здравоохранении.

Практические рекомендации структурированы, имеют адресный характер, содержат конкретные предложения по внедрению в работу разработанного алгоритма оценки риска развития хронического течения иммунной тромбоцитопении.

В перспективах дальнейшей разработки темы автор акцентирует внимание на необходимости дальнейшего изучения состава миелоплазмы, определения референсных интервалов для биохимических и иммунологических методик исследования миелоплазмы и дальнейшей их индивидуализации. Изучение данной проблемы актуально и своевременно.

Список сокращений содержит все аббревиатуры, использованные в тексте диссертации.

Содержание автореферата полностью отражает существо диссертационной работы, оформлено в соответствии с требованиями, раскрывает основные положения, выносимые на защиту.

Принципиальных замечаний, которые могли бы повлиять на общую положительную оценку рецензируемой работы нет. Однако в порядке дискуссии хотелось бы услышать ответы диссертанта на следующие вопросы:

1. В диссертационном исследовании использован малоизученный биологический материал - миелоплазма. Каким образом Вы обеспечивали достоверность исследования именно миелоплазмы?

2. Чем Вы руководствовались при выборе исследования в миелоплазме таких показателей, как содержание железа, ферритина, трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина, интерлейкина-6, интерлейкина-8, эритропоэтина, фактора роста эндотелия сосудов и определение активности аланинаминотрансферазы?

3. Какие из выбранных показателей миелоплазмы обладают наибольшей информативностью, или необходим весь спектр? Насколько это доступно в реальной клинической практике?

4. В новых рекомендациях международного консенсуса отмечается, что нет строгой необходимости в пункции грудины у пациентов при подозрении на ИТП. Исключение составляют пациенты, в первую очередь в возрасте старше 60 лет, у которых выявляются изменения в периферической крови (количественные, морфологические). Вы предлагаете исследование миелограммы всем пациентам с признаками тромбоцитопении, какие у Вас для этого основания?

5. Вы предлагаете новую модель прогноза хронического течения ИТП для юношеской группы и взрослых. Можно ли использовать эту модель для детей?

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Габрильчак Анастасии Ивановны на тему «Клинико-лабораторные предикторы хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научной квалификационной работой, в которой решена актуальная научно-практическая задача по прогнозированию хронического течения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, что имеет большое значение для клинической лабораторной диагностики и медицины в целом.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата наук в пунктах 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от 01.10.2018 г. № 1168 с изменениями от 26.05.2020 г.), а ее автор, Габрильчак А.И., заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

### Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,  
академик РАН, заслуженный деятель науки РФ,  
руководитель научных исследований  
Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Российский научно-исследовательский институт  
гематологии и трансфузиологии  
Федерального медико-биологического агентства»  
(шифр специальности по профилю  
докторской диссертации: 14.01.21 – гематология и переливание крови)

18.09 2023 г.



Бесмельцев Станислав Семенович

Адрес: 191024, Санкт-Петербург, 2-я Советская ул., дом 16  
Телефон: +7 (812) 309-79-81 доб. 102  
Электронный адрес: bloodscience@mail.ru

Подпись Бесмельцева Станислава Семеновича заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии  
Федерального медико-биологического агентства»  
доктор медицинских наук

Павлова Ирина Евгеньевна