

ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора медицинских наук, **Петрова Виктора Юрьевича** на диссертацию Чернецкой Дарьи Михайловны по теме: «Молекулярно-генетическая диагностика болезни Виллебранда», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Актуальность темы диссертационного исследования

Болезнь Виллебранда (БВ) – это распространенная наследственная коагулопатия, которая представлена 6 типами, два из которых количественные, то есть связаны со снижением количества фактора Виллебранда (vWF) в кровеносном русле (тип 1) или с его отсутствием (тип 3). В последних рекомендациях ISTH также выделяют тип 1С, связанный со снижением концентрации vWF в связи с его ускоренным выводом из кровяного русла.

Качественные нарушения типы vWF могут приводить к снижению его аффинности к фактору свертывания VIII (тип 2N), отсутствию высокомолекулярной фракции мультимеров vWF (тип 2A), повышению сродства vWF к рецептору гликопротеина Ib-тромбоцитов (тип 2B) и к снижению аффинности к тромбоцитам или коллагену сосудов (тип 2M).

Предпосылки развития болезни носят генетический характер. Заболевание наследуется моногенно (ген *VWF*) и аутосомно. Современные представления о наследовании БВ позволили определить для разных типов БВ разные типы наследования: типы 2N и 3 наследуются рецессивно, остальные типы – доминантно, однако для типа 1 БВ характерна неполная пенетрантность, то есть симптомы болезни могут не проявиться в течении жизни, или развиться с возрастом. Известна локализация нарушений, свойственных определенным типам БВ в гене, например, нарушения, вызывающие тип 2B, находятся только в экзоне 28, в то время как нарушения, вызывающие типы 1 и 3 могут быть обнаружены по всему гену.

Современные данные позволяют внедрять молекулярно-генетические методы для диагностики БВ и ее типов, тем не менее остается ряд нерешенных вопросов. В рамках данной диссертационной работы российская популяция пациентов с БВ впервые была изучена с точки зрения нарушений в гене *VWF*, что позволяет соотнести данные отечественной популяции с мировыми и определить, является ли распределение мутаций типичным. Это позволило разработать алгоритм анализа гена *VWF* для разных (с точностью до типа БВ) направительных диагнозов. Новые найденные варианты гена *VWF*, не упоминавшиеся ранее в литературе, могут быть патогенными, эта возможность обсуждается в тексте диссертации. Молекулярно-генетический анализ позволяет заменить некоторые коагулологические исследования, не являющиеся широко распространенными.

Молекулярно-генетические методы открывают перспективу для пренатального консультирования, планирования семьи.

Научная новизна

В диссертационном исследовании впервые проведена оценка распределения патогенных вариантов гена *VWF*, характерного для отечественной популяции пациентов. Полученный мутационный спектр гетерогенен: выявлено 37 разных вариантов гена *VWF*, 11 из которых являются новыми и ранее в литературе описаны не были. Микроделеция с.2435delC, преобладающая в ряде европейских популяций, преобладает и в отечественной популяции (25%).

Полученные в ходе анализа гена *VWF* нарушения сопоставлены с коагулологическими данными по каждому пациенту, что позволило расширить и уточнить клинический диагноз и понимание клинической картины для каждого пациента в отдельности.

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

Автором получены данные о спектре мутаций в российской выборке пациентов с БВ или подозрением на БВ. Полученные в результате работы

данные расширяют знания о соотношении генотипа и фенотипа при БВ. Обнаружены новые варианты гена *VWF*, обсуждена их потенциальная патогенность.

Практическая значимость исследования состоит в разработке и внедрении алгоритма молекулярно-генетической диагностики БВ и ее типов в рутинную практику, что подтверждается соответствующими тестами лабораторной диагностики, оказываемыми пациентам ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ. Уточнены диагнозы пациентов, вошедших в эту работу, а также проверено наличие соответствующих мутаций у родственников пациентов. Данная работа позволяет скорректировать в будущем планирование экспериментов и клинических исследований БВ.

Полнота изложения основных результатов диссертационной работы в научной печати

По теме диссертации имеется 11 работ: 2 статьи в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Российской Федерации, 1 статья в зарубежном журнале (журнал индексируется в реферативных базах Scopus и Web of Science), 8 тезисов, 1 доклад на IX Съезде Российского общества медицинских генетиков в 2021г.

Структура и оценка содержания диссертационной работы

Диссертационная работа изложена на 111 страницах, содержит 12 рисунков и 20 таблиц, включает главы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации», «Список сокращений», «Приложения А-Г». Список литературы содержит 189 ссылок, из них 11 на русском языке.

Во введении отображена необходимость и актуальность проблемы, автор обосновывает цель и задачи работы, научную и практическую новизну и положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы включает зарубежные и отечественные публикации, посвященные механизму развития болезни Виллебранда и ее типов, а также роль молекулярно-генетических методов в диагностике БВ. Разделы обзора литературы соответствуют разделам результатов. Обзор литературы подробный, полностью отражает современное представление изучаемой проблемы.

В главе «Материалы и методы» подробно представлен дизайн исследования, критерии включения пациентов в исследование. Отдельного внимания заслуживает детальное описание этапности лабораторной части исследования. Приведена характеристика групп пациентов, иллюстрирован дизайн исследования.

В главе «Результаты и обсуждение» приведены результаты собственного исследования и обсуждение в контексте мировых данных. В главе описывается полученный для российской выборки пациентов спектр мутаций, приводятся новые не описанные ранее в литературе варианты гена *VWF*, обсуждаются результаты и их интерпретация по каждому типу БВ и по каждому больному в отдельности, приводятся результаты анализа родственников пациентов. В качестве результата представлен разработанный алгоритм анализа гена *VWF* методом Сэнгера, рассмотрены ограничения методов и зона их применимости. Результаты молекулярно-генетического анализа сопоставлены с клиническим диагнозом. Отдельно рассмотрены случаи генной конверсии.

Заключение объединяет основные результаты научной работы. Выводы, представленные в работе, соответствуют целям и задачам диссертации, полностью отражают ключевые результаты проведенного исследования.

Практические рекомендации отражают роль анализа гена *VWF* методом Сэнгера в алгоритме анализа БВ и ее типах в зависимости от направительных диагнозов и доступных коагулологических исследований.

Обоснованность положений диссертации

Использованные методические подходы, достоверность и обоснованность выводов, представленных в диссертационной работе Чернецкой Дарьи Михайловны, не вызывает сомнений. Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертации.

Недостатки по содержанию и оформлению работы

Работа выполнена на высоком методическом и профессиональном уровне. Существенных замечаний по смыслу выполненного исследования и содержанию, выбору методических подходов, обоснованности положений и выводов, практической и теоретической значимости нет.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней

Вышеизложенное позволяет сделать вывод о том, что диссертационная работа Чернецкой Дарьи Михайловны на тему: «Молекулярно-генетическая диагностика болезни Виллебранда», выполненная под руководством доктора медицинских наук Зозули Надежды Ивановны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной самостоятельно выполненной квалификационной научной работой, в которой проведен молекулярно-генетический анализ гена VWF у больных с подозрением на болезнь Виллебранда.

По своей актуальности, уровню и объему проведенных исследований, научной новизне и практической значимости представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842 (с изменениями и дополнениями в редакции от 18 марта 2023 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает искомой ученой степени кандидата

биологических наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук,
врач-гематолог гематологического отделения
ГБУЗ «Морозовская ДГКБ»
Департамента здравоохранения города Москвы

Петров Виктор Юрьевич

Подпись доктора медицинских наук, Петрова В. Ю. заверяю:

Заместитель глав. врача по кадрам «ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ»,



Савицкая Ирина Анатольевна

Сведения об организации:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы»

Адрес: 119049 г. Москва, 4-й Добрынинский переулок, дом 1/9

Телефон: +7 (495) 870-55-22

Адрес сайта: <http://мороздгкб.рф/>

Дата: «24» 11 2023г.