

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора  
Демихова Валерия Григорьевича на диссертационную работу  
Полохова Дмитрия Михайловича на тему «Диагностика нарушений функции  
тромбоцитов у детей с использованием метода проточной цитометрии»,  
представленную на соискание  
ученой степени кандидата медицинских наук  
по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови

### Актуальность темы исследования

Диагностика наследственных нарушений функции тромбоцитов является актуальной задачей в гематологии по причине сложности стандартизации преаналитического этапа, используемых реагентов, и концентраций активаторов тромбоцитов. На сегодняшний день, для получения целостной картины в диагностике заболеваний, их этиологии и характера дисфункции клеток, требуется целый комплекс труднодоступных в рутинной практике, дорогостоящих высокотехнологичных лабораторных исследований. Это обуславливает запрос на создание многопараметрических, быстровыполнимых и доступных диагностических исследований, основанных на методе проточной цитометрии с активацией, к числу которых относится исследование «Функциональная активность тромбоцитов» (ФАТ). Более половины пациентов с микроциркуляторным геморрагическим синдромом получают «диагнозы исключения», такие как «Геморрагическое состояние неуточнённое» или «Иммунная тромбоцитопения» по причине гиподиагностики.

Тромбоцитопения и/или кровоточивость могут быть первыми симптомами семейной тромбоцитопении/тромбоцитопатии с предрасположенностью к острому миелоидному лейкозу (мутация *RUNX1*), тромбоцитопений, ассоциированных с мутациями генов *ANKRD26*, *ETV6*, *MYH9* и др., поэтому своевременная диагностика позволяет улучшить прогноз лечения при осложнениях этих заболеваний.

Отдельная научно-практическая задача заключается в выявлении связей между тяжестью геморрагического синдрома и характером дисфункции

тромбоцитов у пациентов. Это важно для прогнозирования рисков кровотечения, оптимизации терапии и изучения патофизиологических механизмов заболеваний.

Нарушения функции тромбоцитов не исчерпываются геморрагическими тромбоцитопатиями и тромбоцитопениями. При тромбоцитарных тромбофилиях и тромбоцитозах различной этиологии часто возникают ишемические и/или тромботические осложнения, характерные, главным образом, для взрослых пациентов.

В перспективе, накопление данных и опыта использования проточной цитометрии, позволит существенно облегчить диагностический процесс нарушений функции тромбоцитов в широкой клинической практике и исключить необходимость обращения с этой целью в ведущие федеральные учреждения здравоохранения.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Степень обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций обеспечена объёмом и репрезентативностью выборки пациентов в исследовании – 191 случай заболеваний с нарушением функции тромбоцитов у детей, а также применением современных методов статистической обработки данных. Работу отличает ясный научно-обоснованный дизайн исследования, в котором диссертант последовательно решает поставленные задачи. Путем использования расчётных индексов «в покое / после активации» автором был разработан оригинальный подход для оценки функциональных нарушений при заболеваниях тромбоцитов, которые характеризуются увеличенным или уменьшенным размером клеток. Таким образом, исследователем была решена проблема неприменимости «классического» подхода использования референсных диапазонов, для маркеров функции тромбоцитов в абсолютных значениях. Полученные в ходе исследования результаты наглядно и подробно отражены в тексте, таблицах и диаграммах. Выводы диссертационного исследования, несомненно, имеют научное и практическое значение.

По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них 10 в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий Высшей аттестационной комиссии (ВАК) при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 9 в зарубежных журналах, индексируемых реферативными базами данных Web of Science или Scopus. Материалы диссертации были доложены и обсуждены на 10 крупных конгрессах.

#### **Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность**

Полохов Д.М. провел оригинальный анализ 6 различающихся по нозологическому составу групп пациентов детского возраста. Группы были сформированы в зависимости от количества и размера тромбоцитов, благодаря чему лаконично вписываются в современную концепцию классификации тромбоцитопатий, тромбоцитопений и тромбоцитозов.

Целью работы являлась оценка диагностических возможностей лабораторного теста, основанного на методе проточной цитометрии, у детей с различными нарушениями тромбоцитарного гемостаза. Этого удалось достичь за счёт введения расчётных индексов активации, позволяющих оценивать эффективность ответа тромбоцитов на стимуляцию агонистами персонализировано. Такой подход позволяет избежать ложной интерпретации полученных значений в рамках диапазона норм в их традиционном применении. В изученных группах впервые определены комплексы нарушений, связанные с геморрагическими проявлениями, показана их связь с тяжестью кровоточивости для тромбоцитопений у детей. Особо ярко выделяются результаты исследования пациентов с неуточнённым геморрагическим синдромом и выявленные у них паттерны нарушения морфологии и функции тромбоцитов.

#### **Оценка оформления диссертации, ее завершенности**

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ, предъявляемыми к диссертационным работам, состоит из введения, обзора литературы по теме диссертации, описания материалов и методов исследования, полученных результатов, главы обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и приложения. Работа изложена на 157 страницах

машинописного текста, иллюстрирована 17 таблицами и 46 рисунками. Библиография включает 150 источников литературы (10 – отечественных, 140 – зарубежных).

Во введении обосновывается актуальность исследования, указаны цель, задачи, научная новизна и практическая значимость работы. Представлена информация о соответствии диссертационного исследования паспорту специальности, указаны сведения о личном вкладе автора и публикациях основных результатов исследования.

Глава первая – Обзор литературы.

В главе приведены данные о распространённости наследственных заболеваний тромбоцитов, их классификации, патофизиологических особенностях нарушений функции тромбоцитов, трудностях диагностики и вариабельности течения различных тромбоцитопатий. Выделены критерии для групп болезней: тромбоцитопатий; наследственных тромбоцитопений с нормальным, уменьшенным и увеличенным размером тромбоцитов; тромбоцитозов клонального происхождения. Рассмотрен вопрос о недостаточной изученности функции тромбоцитов у пациентов с неуточнённым геморрагическим синдромом. На основании выделенных групп проведён анализ полученных данных в диссертации.

Во второй главе «Материалы и методы» представлены данные о пациентах и контрольной группе здоровых добровольцев. Указаны ссылки на международные стандарты, использованные при анализе результатов. Описана методология, материалы и условия проведения клинического обследования, дифференциальной диагностики с коагулопатиями, исследования проточной цитометрии тромбоцитов, генетического тестирования пациентов, указаны методы статистической обработки данных.

В третьей главе «Результаты исследования» представлены результаты собственных исследований, имеющие достаточный объём клинических и лабораторных данных. Приведены подробные характеристики исследуемых групп пациентов. Результаты работы подробно описаны и хорошо иллюстрированы в

виде таблиц и рисунков. Последовательно охарактеризованы нарушения маркеров функции тромбоцитов пациентов: рецепторов, гранул, фосфатидилсерина. Изменения размера и гранулярности тромбоцитов при активации. Результаты исследования получены и описаны в соответствии с принципами доказательной медицины. Для ряда показателей рассчитаны показатели чувствительности и специфичности метода проточной цитометрии для диагностики заболеваний.

В четвертой главе «Обсуждение результатов» проведен подробный анализ выявленных паттернов нарушений функции тромбоцитов, их связь с тяжестью геморрагического синдрома. Выполнено сравнение каждого отклонения от нормы в группах пациентов с современными литературными данными посвященными изучаемым болезням. Предложены интерпретации механизмов патофизиологических нарушений и их связи с тяжестью клинических проявлений.

В разделе «Заключение» Полохов Д.М. резюмирует полученные клинко-лабораторные результаты исследования для изученных групп пациентов. Указывает их сходства и различия, рассматривает вклад отдельных нарушений или комплексов нарушений рецепторов, гранул, прокоагулянтной активности в развитии симптомов и их тяжести.

Раздел «Выводы» состоит из четырех пунктов, содержащих перечень заболеваний для которых показана высокая диагностическая чувствительность и/или специфичность использованной методики проточной цитометрии; выделены диагностические критерии для нарушений функции тромбоцитов у пациентов с неуточненным геморрагическим синдромом; перечислены ранее не описанные в литературе нарушения тромбоцитов у пациентов с классифицированными заболеваниями; описана связь между нарушением прокоагулянтной активности и тяжестью кровотечений.

Практические рекомендации, сформулированные в работе, будут полезны практикующим врачам-гематологам в дифференциальной диагностике наследственных заболеваний тромбоцитов и прогнозировании рисков кровотечений у пациентов в различных ситуациях. Так же в работе предложен подход к научно-практическому анализу функциональных нарушений

тромбоцитов у пациентов с подозрением на неклассифицированную тромбоцитопатию. Предложения и рекомендации, внесенные автором диссертации, будут способствовать повышению качества оказания медицинской помощи пациентам с данной группой заболеваний.

Автореферат диссертации написан и оформлен в соответствии с требованиями Высшей аттестационной комиссии (ВАК) при Министерстве науки и высшего образования РФ, четко отражает основные этапы и результаты проведенного исследования. Принципиальных замечаний и возражений данные диссертации и сделанные автором выводы не вызывают.

### **Практическая значимость работы и рекомендации по использованию результатов диссертации**

В работе Полохов Д.М. показал, что исследование ФАТ может применяться в качестве диагностического при ряде заболеваний тромбоцитов и имеет потенциал для дальнейшего улучшения диагностических возможностей классифицированных тромбоцитопатий и тромбоцитопений. Была убедительно показана возможность выявления неклассифицированных нарушений функции тромбоцитов, что позволяет рекомендовать исследование ФАТ с целью выявления новых, ранее не охарактеризованных форм дисфункции. Предложенный подход к диагностике может быть рекомендован для выявления тромбоцитопатий, тромбоцитопений и неклассифицированных нарушений функции тромбоцитов. Таким образом, работа Полохова Д.М. несомненно является ценной и востребованной для практического и научного применения в здравоохранении.

### **Замечания и вопросы**

К числу недостатков проделанной работы можно отнести относительно поверхностный анализ связей между выявленными идентичными мутациями в подгруппах пациентов и особенностями фенотипа при нарушениях функции тромбоцитов, которые они вызывают. Также имеют место погрешности оформления рисунков, но это не оказывает влияния на ценность полученных автором результатов.

## Заключение

Диссертационная работа Полохова Дмитрия Михайловича на тему «Диагностика нарушений функции тромбоцитов у детей с использованием метода проточной цитометрии», выполненная под руководством доктора медицинских наук, доцента Жаркова Павла Александровича является законченной научно-квалификационной работой, представляющей улучшенный подход к решению актуальной клинической задачи – диагностики заболеваний характеризующихся нарушением функции и количества тромбоцитов с использованием метода проточной цитометрии с активацией.

Диссертационная работа соответствует критериям п.9, п.10, п.11, п.13, п.14, раздела II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (с изменениями в редакции Постановления Правительства РФ от 30.07.2014 №723, от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 №650, от 28.08.2017 №1024, от 26.05.2020 №751, от 11.09.2021 №1539), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Полохов Д.М., заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.28. Гематология и переливание крови.


### Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,  
директор Научно-клинического центра гематологии, онкологии и иммунологии  
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России

 Демихов Валерий Григорьевич

Подпись профессора Демихова Валерия Григорьевича заверяю:  
ректор ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,  
д.м.н., профессор



 Калинин Роман Евгеньевич

10.05.2023

Адрес: г. Рязань, 125167, ул. Строителей, д. 5-В  
Телефон: +7 (4912) 97-19-56

Электронная почта: [mail@hemacenter.org](mailto:mail@hemacenter.org)

## СВЕДЕНИЯ

### об официальном оппоненте

по защите диссертации на соискание учёной степени кандидата медицинских наук Полохова Дмитрия Михайловича на тему «Диагностика нарушений функции тромбоцитов у детей с использованием метода проточной цитометрии», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови

| Ф.И.О.                      | Год рождения, гражданства  | Место основной работы (с указанием организации, министерства, ведомства, города, должности)                | Учёная степень с указанием шифра специальности которой защищена диссертация)     | Учёное звание (по специальности или по кафедре)                    | Основные работы   |
|-----------------------------|----------------------------|--|--|--|---|
| Демихов Валерий Григорьевич | 1965, Российская Федерация | г. Рязань, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский | Доктор медицинских наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови | Профессор по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови | 1. Бельских Э.С., Урасьев О.М., Звягина В.И., Журкина О.Н., <b>Демихов В.Г.</b> Оценка митохондриальной дисфункции при обострении ХОБЛ с помощью катионного красителя jc-1 методом проточной цитофлуориметрии // Земский врач. 2020. № 1. С. 13-18. |

|  |  |   |  |  |
|--|--|---|--|--|
|  |  | <p>государственный<br/>         медицинский<br/>         университет<br/>         имени академика<br/>         И.П. Павлова»<br/>         Министерства<br/>         здравоохранения<br/>         Российской<br/>         Федерации,<br/>         Научно-<br/>         клинический<br/>         центр<br/>         гематологии,<br/>         онкологии и<br/>         иммунологии,<br/>         директор</p> |  | <p>2. <b>Демихов В.Г.</b>, Скобин В.Б.<br/>         Клинический случай:<br/>         использование эмпиризумба у<br/>         ребенка с ингибиторной формой<br/>         гемофилии а // Российский<br/>         журнал детской гематологии и<br/>         онкологии. 2020. Т. 7. № S4. С.<br/>         10-11.</p> <p>3. Калинин Р.Е., Сучков И.А.,<br/>         Мжаванадзе Н.Д., <b>Демихов В.Г.</b>,<br/>         Журкина О.Н., Климентова Э.А.<br/>         Показатели гемостаза у<br/>         пациентов с атеросклерозом<br/>         периферических артерий при<br/>         реконструктивно-<br/>         восстановительных операциях //<br/>         Хирургия. Журнал им. Н.И.<br/>         Пирогова. 2018. № 8. С. 46-49</p> <p>4. Александрова Ю.А., Васильева<br/>         Е.С., Крацова Н.Б., Журкина<br/>         О.Н., Скобин В.Б., <b>Демихов В.Г.</b>,<br/>         Морщакова Е.Ф.<br/>         Коагулологические и<br/>         генетические исследования в<br/>         комплексной оценке состояния<br/>         системы гемостаза у беременных<br/>         женщин // Вестник<br/>         последипломного медицинского</p> |
|--|--|---|--|--|

|  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  | <p>образования. 2013. № 3. С. 32.</p> <p>5. Дорофеева Е.И., <b>Демихов В.Г.</b>, Демихова Е.В., Скобин В.Б., Жаров И.А., Моршачкова Е.Ф. Особенности гемостаза у новорожденных детей // Тромбоз, гемостаз и реология. 2013. № 1 (53). С. 44-47.</p> <p>6. Дорофеева Е.И., Жаров И.А., <b>Демихов В.Г.</b>, Моршачкова Е.Ф. Значение современных лабораторных показателей гемостаза для ранней диагностики двс-синдрома в неонатальном периоде // Вопросы современной педиатрии. 2006. Т. 5. № 1. С. 712.</p> |
|--|--|--|--|--|

Не являюсь членом экспертного совета ВАК.  
 На обработку персональных данных согласен.

Доктор медицинских наук, профессор

Подпись Д.М.Н., профессора Демихова Валерия Григорьевича заверяю:

ректор ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,  
 Д.М.Н., профессор

28.03.2023

Демихов Валерий Григорьевич

Калинин Роман Евгеньевич

