

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, заведующего отделением гематологии и химиотерапии МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр радиологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессора кафедры гематологии и трансфузиологии им. И.А. Кассирского и А.И. Воробьева Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Шуваева Василия Анатольевича

на диссертационную работу Пшонкина Алексея Вадимовича на тему: «Классические *BCR::ABL* негативные миелопролиферативные новообразования у детей и подростков», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям – 3.1.28 - Гематология и переливание крови и 3.1.21 - Педиатрия

### Актуальность избранной темы

Миелопролиферативные новообразования (МПН) – группа заболеваний клональной природы, для которых характерна аномальная пролиферация миелоидного ростка кроветворения и соединительнотканых структур костного мозга. Частыми общими для них клиническими проявлениями также является развитие очагов экстрамедуллярного кроветворения и тромбозов. При длительном течении заболевания может происходить развитие миелофиброза или бластной трансформации.

Каждое из миелопролиферативных новообразований идентифицируют по его преобладающему морфологическому проявлению или молекулярно-генетическим признакам. Хотя группа МПН имеет ряд общих симптомов, все же для каждой формы патологии характерно определенное сочетание клинических проявлений, особенностей течения и лабораторных данных. Объединяет все эти болезни тот

факт, что причиной их развития является аномальное размножение клона на уровне плюрипотентных стволовых клеток, ведущее к пролиферации клеток эритропоэза, гранулоцитопоэза и мегакариоцитопоэза, выраженной в разной степени. Кроме того, всем миелопролиферативным новообразованиям свойственно в большей или меньшей степени завершаться трансформацией в бластный криз. Диагноз каждой нозологической формы устанавливается в соответствие с диагностическими критериями ВОЗ на основании комплексного обследования с использованием молекулярно-генетических методов. Достижения фундаментальных наук позволили в настоящее время превратить диагностику МПН из исключения других причин изменений крови в доказательно обоснованный процесс, основанный на выявлении специфичных биологических маркеров, имеющих не только диагностическое, но и прогностическое значение.

Ранее традиционно бытовало мнение о том, что МПН заболевают преимущественно люди пожилого возраста, однако после идентификации основных драйверных мутаций МПН в генах *JAK2*, *CALR*, *MPL*, около трети пациентов могут быть диагностированы в возрасте до 40 лет, также молекулярно-генетический скрининг позволил выявлять МПН и у детей, что раньше считалось казуистикой.

В настоящее время нет однозначных данных о частоте и структуре заболеваемости МПН у детей, имеющиеся описания серий наблюдений дают основания предполагать значительные отличия частот драйверных мутаций и ландшафта мутационной нагрузки у взрослых. Существуют значительные затруднения в морфологической верификации диагнозов у детей связанные с трудностями получения морфологического материала для гистологического исследования и сложностями оценки гиперклеточности, фиброза и реактивных изменений костного мозга от нормальной в детском возрасте.

Традиционно, усилия в лечении МПН у подавляющего большинства пациентов сосредоточены на профилактике тромботических событий, как основной причины смертности и инвалидизации. Профилактике развития фиброзной трансформации и бластного криза уделяется мало внимания в связи с

отсутствием, за исключением аллогенной трансплантации костного мозга (гемопозитических стволовых клеток), мер воздействия на естественное течение процесса и значимой конкуренции с естественными причинами смертности у ранее представлявшегося типичного пациента с дебютом заболевания в возрасте 60-70 лет.

Не совсем ожидаемое появление новых популяций пациентов с МПН: молодых взрослых и детей обусловило необходимость изменения традиционных риск-адаптированных стратегий лечения. С одной стороны, при дебюте МПН в молодом возрасте относительный риск тромбозов повышен приблизительно в четыре раза по сравнению с популяцией, но абсолютная частота тромбозов в год является невысокой. Тогда как ожидаемая длительная продолжительность жизни может привести к реализации естественного течения заболеваний с развитием фиброзной и бластной трансформаций, что приводит к восьмикратному повышению риска онкологической смертности по сравнению с популяцией. Таким образом в лечении молодых пациентов и детей с МПН имеется насущная необходимость в сдвиге направленности парадигмы от профилактики и лечения тромбозов и кровотечений к более существенным усилиям по изменению естественного течения заболеваний и предотвращению развития фиброзной трансформации и бластного криза.

Все это делает диссертационное исследование Пшонкина А.В. «Классические *BCR::ABL* негативные миелопролиферативные новообразования у детей и подростков» крайне актуальным и необходимым для развития современной гематологии, аналоги данного исследования в отечественной науке отсутствуют, что обуславливает его несомненную научную новизну и практическую значимость.

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

Полученные соискателем данные и сделанные на их основе выводы не вызывают сомнений, что подтверждено детальным анализом результатов комплексного обследования 154 пациентов детского и подросткового возраста с

истинной полицитемией и эссенциальной тромбоцитемией. Материалы исследования хорошо документированы, проведено всестороннее обследование с оценкой клинических и морфологических проявлений, лабораторных показателей, в том числе тщательное исследование гемостаза, молекулярно-генетических особенностей заболеваний и результатов инструментальных методов исследования. Часть результатов, представленных в исследовании, ранее нигде не сообщалась и имеет мировой приоритет научной новизны.

В работе впервые представлены данные о заболеваемости детей и подростков классическими *BCR::ABL* негативными миелопролиферативными новообразованиями (МПН) - истинной полицитемией (ИП) и эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ) в Российской Федерации. Не выявлено признаков миелофиброза, характерного для классических *BCR::ABL* негативных МПН у взрослых.

Впервые показано, что для детей и подростков с классическими *BCR::ABL* негативными МПН характерен ранний возраст манифестации заболевания, с низкой частотой клинических симптомов и частой негативностью по драйверных мутаций.

Установлены качественные и количественные отличия работы системы гемостаза у детей и подростков с ЭТ и ИП.

Впервые установлено статистически значимое количественное пороговое значение числа тромбоцитов выше  $1100 \times 10^9/\text{л}$  у детей и подростков с эссенциальной тромбоцитемией при котором повышается вероятность развития гипокоагуляции.

Впервые в мире обнаружена взаимосвязь клеточности костного мозга по результатам трепанобиопсии с фракцией жира, наблюдаемой при проведении МРТ детям и подросткам с ЭТ и ИП, что может быть практически использовано при невозможности проведения трепанобиопсии при обследовании детей с подозрением на наличие МПН.

Впервые выявлено, что у детей и подростков с эссенциальной тромбоцитемией на фоне тромбоцитоза наблюдается их функции агрегации что

обуславливает необходимость включения исследования агрегации тромбоцитов в программу обследования детей с МПН.

Продемонстрировано, что у детей и подростков с ЭТ и ИП наличие спленомегалии определяется чаще при тромбоцитозе более  $1500 \times 10^9/\text{л}$ , и низкой активности фактора Виллебранда.

По результатам высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS) в варианте таргетного и/или полногеномного выявлены значимые генетические поломки и мутации неясного клинического значения, не описанные ранее у детей с МПН.

Впервые в отечественной практике разработаны алгоритмы диагностики и тактики ведения детей и подростков с ИП и ЭТ.

Теоретическая и практическая значимость работы несомненно дают возможность существенно расширить понимание особенностей *BCR::ABL* негативных МПН в педиатрической популяции.

На основании комплексного использования клинических, лабораторных и инструментальных методов, в том числе широкого применения методов молекулярной генетики усовершенствованы подходы к диагностике *BCR::ABL* негативных МПН у детей и подростков.

Установлен пороговый уровень тромбоцитов  $1100 \times 10^9/\text{л}$  у детей и подростков с ЭТ при котором увеличивается риск кровотечений.

Показано, что проведение МРТ с оценкой фракции жира в костном мозге может служить дополнительным критерием оценки клеточности костного мозга у детей и подростков с ЭТ и ИП, что особенно важно при невозможности проведения трепанобиопсии.

Определен пороговый уровень фибриногена выше 2,1 г/л при котором значимо увеличивается риск развития нарушений микроциркуляции при ЭТ.

Установлено, что при повышении уровня лейкоцитов у детей и подростков с ЭТ пропорционально снижается агрегация тромбоцитов с ристоцетином, а при повышении эритроцитов снижается ответ на индукцию агрегации адреналином и коллагеном.

Предложены алгоритмы выбора тактики ведения для детей и подростков с истинной полицитемией и эссенциальной тромбоцитемией в зависимости от степени риска, включающие оценку клеточности костного мозга, цитогенетическое исследование клеток костного мозга, мультиплексную аллель-специфическую ПЦР / высокопроизводительное полногеномное секвенирование ДНК, углубленное исследование клеточного и гуморального гемостаза.

Таким образом, обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертационной работе Пшонкина А.В., не вызывает сомнений.

### **Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций**

Достоверность полученных диссертантом фактических данных не вызывает сомнений. Методы исследования, примененные автором, современны и информативны.

Работу характеризует оригинальность подхода и научная новизна, большое количество современных исследований и изучения взаимосвязей клинических и лабораторных показателей с результатами биологических и инструментальных методов исследования.

Автором впервые в отечественной практике представлены результаты обследования детей и подростков с *BCR::ABL*-негативными МПН.

В исследовании определены клинические характеристики детей с МПН и продемонстрированы отличия педиатрической популяции от взрослой. Осложнения у детей с классическими *BCR::ABL* негативными МПН встречаются реже, чем у взрослых пациентов. Таким образом, прогноз для детей с МПН относительно благоприятный. Учитывая редкость Ph-отрицательных случаев МПН у детей, для полного выяснения клинических и генетических особенностей этих гемопозитических нарушений требуются дальнейшие исследования, включающие комплексный генетический анализ (NGS, WGS), что также было реализовано в ходе данного исследования.

Учитывая редкость классических *BCR::ABL* негативных МПН у детей, подростков и молодых взрослых требуются консолидированные усилия по дальнейшему изучению клинических и биологических параметров у этих пациентов, основой которых в будущем будет данное диссертационное исследование. Результаты исследования могут быть использованы в практической деятельности отделений детской гематологии, а также в учебном процессе для преподавания соответствующих разделов онкологии в ВУЗах.

По материалам исследования опубликовано 24 научные работы, из них 15 в журналах, рецензируемых ВАК. Основные положения диссертации были доложены на научных конференциях в России и за рубежом.

### **Содержание и оформление диссертационного исследования**

Диссертация Пшонкина А.В. на тему «Классические *BCR::ABL* негативные миелопролиферативные новообразования у детей и подростков» изложена на 292 страницах, построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав, представляющих результаты исследования и их обсуждение, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, который представлен 233 источниками, из которых 45 – отечественные и 188 – зарубежные. Диссертация структурирована, разделы работы связаны друг с другом, соответствуют задачам и логике исследования, что свидетельствует об авторе как о сложившемся учёном, справившемся с поставленными задачами и достигшим цели исследования.

Введение посвящено описанию актуальности избранной темы исследования, сформулирована цель и семь задач исследования. В этом разделе представлены пять положений, выносимых на защиту, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, информация об апробации, реализации и внедрении результатов исследования в практику, публикациях по теме исследования, личном вкладе автора, соответствие диссертации паспортам специальностей.

Первая глава традиционно посвящена обзору литературных данных и содержит современные сведения о физиологии гемопоэза, распространенности, патогенезе, клинических, морфологических и лабораторных особенностях классических Rh-негативных миелопролиферативных новообразований. Дана цитогенетическая, молекулярно-генетическая характеристика заболеваний, описаны известные факторы прогноза течения и подходы к терапии. Представлен обзор имеющихся исследований МПН в педиатрической популяции, отмечена недостаточная разработанность данной темы у детей и подростков и актуальность новых исследований.

В следующей второй главе изложены материалы и методы исследования, описаны критерии включения и исключения из исследования. Представлены подробная характеристика исследуемых пациентов и порядок их обследования, описание используемых методов исследования морфологии клеток крови и костного мозга, оценки системы гемостаза, цитогенетических и молекулярно-генетических методов. Приведены современные критерии диагностики *BCR::ABL* негативных МПН, методы статистической обработки и анализа полученных данных.

В третьей главе представлены результаты эпидемиологии классических *BCR::ABL* негативных миелопролиферативных новообразований у детей и подростков в Российской Федерации полученные по результатам ретроспективного сбора информации и общенационального популяционного исследования по оценке распространенности данной группы заболеваний. В период с 2012-2016 гг. медиана заболеваемости Rh- МПН составляла  $0,027 \pm 0,024$  на 100 000 детского населения, а в период 2022-2024 –  $0,06 \pm 0,017$  на 100 000 детского населения.

В главе 4 представлена характеристика 93 пациентов с эссенциальной тромбоцитемией. Установлена медиана возраста манифестации заболевания - 9 лет. Основными клиническими симптомами были: проявления нарушения микроциркуляции (28%), спленомегалия (45,2%, чаще при уровне тромбоцитов  $\geq 1500 \times 10^9/\text{л}$ ) и гепатомегалия (24,7%). Драйверные мутации выявляются у 39,8%

пациентов (*JAK2V617F* – 19,4%, *CALR* – 18,3%, *MPL* – 2,1%). При количестве тромбоцитов  $\geq 1500 \times 10^9/\text{л}$  характерно значимое снижение активности vWF и соотношения активности/антигена vWF; в данной подгруппе чаще определялась драйверная мутация *CALR* и реже – *JAK2V617F*.

Пятая глава посвящена результатам обследования пациентов с ИП. Был включен 61 пациент с повышенным количеством эритроцитов, в том числе 41 пациент с ИП и 20 пациентов с семейным эритроцитозом (СЭ). Медиана возраста манифестации при ИП была 13 лет, а возраст постановки диагноза – 15 лет. Статистически значимых различий между частотой клинических проявлений у пациентов с ИП и СЭ не выявлено, однако, при СЭ, в целом, симптомы заболевания были представлены исключительно нарушениями микроциркуляции, в то время как таких проявлений как кровоточивость, тромбозы не встречались вовсе. Тромбозы не наблюдались ни у одного пациента. Для пациентов с ИП в большинстве случаев (63%) была характерна спленомегалия, в то время как у детей с СЭ увеличение размеров селезенки по данным УЗИ было выявлено лишь в 10% случаев ( $p < 0,001$ ). При анализе показателей эритроидного ростка выявлено, что у пациентов с СЭ в сравнении с ИП статистически значимо был выше уровень гемоглобина (177 против 153 г/л,  $p = 0,005$ ). Выявлено, что активность vWF у пациентов с ИП была в 1,91 меньше по сравнению с пациентами с СЭ ( $p = 0,042$ ). Данные различия не сопровождалось изменениями со стороны концентрации антигена, однако они нашли отражение в более низком значении соотношения активности vWF и его антигена у пациентов с ИП ( $p = 0,018$ ). Дефицит vWF (RCo активность  $< 50\%$ ) был выявлен у 17 (42%) пациентов с ИП и 1 (5,0%) с СЭ ( $p = 0,003$ ). При проведении корреляционного анализа RCo активности vWF с клинико-лабораторными показателями у пациентов с ИП выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь с наличием спленомегалии, гепатомегалии, числом тромбоцитов в крови, количеством лейкоцитов, а также с содержанием фибриногена, протромбина, значением МНО, ПВ, АЧТВ, ТВ. У большинства пациентов отмечалась нормальная агрегация, гипоагрегация выявлялась в 4,9%, 19,5%, 29,3% и 34,1% случаев при индукции с АДФ, адреналином, коллагеном и

ристоцетином, соответственно. Гиперагрегация тромбоцитов выявлена в 7,3% и 4,9% случаев при индукции с АДФ и коллагеном, соответственно. При исследовании ТЭГ выявлено, что у пациентов с СЭ была статистически достоверно выше кинетика и ниже - показатель угла альфа и максимальной амплитуды по сравнению с пациентами с ИП, то есть у пациентов с ИП коагуляция более выражена, вероятно за счет более высокого числа количества тромбоцитов. Нормальная клеточность костного мозга при ИП наблюдалась в 4,1 раза реже по сравнению с СЭ ( $p=0,04$ ). При оценке клеточности костного мозга по данным МРТ у пациентов с ИП было выявлено низкое значение фракции жира - 18,25 [12,5-27,5] %, оно статистически значимо различалось в сравнении с контрольной группой ( $Q = 5,1, p < 0,001$ ). Кроме того, в рамках исследования так же оценивалась клеточность костного мозга у пациентов аналогичного возраста с вторичным (реактивным) эритроцитозом, обусловленным заболеванием почек или сердечно-сосудистой системы. В случае вторичного эритроцитоза показатели фракции жира не различались от контрольной группы, что позволяет предположить реактивную природу изменений и может помочь в дифференциальной диагностике клональных и реактивных состояний гемопоэза. Драйверные мутации были выявлены у 46% пациентов с ИП, более характерно было наличие мутации *JAK2* (61%), а тройной негативный статус по наличию драйверной мутации наблюдался в 39,0% случаев (данные показатели нуждаются в уточнении). Количество лейкоцитов, нейтрофилов и тромбоцитов у детей и подростков с мутацией *JAK2* было выше по сравнению с пациентами с отсутствием драйверных мутаций, уровни гемоглобина и гематокрита – ниже. У пациентов с ИП и с активностью *vWF* ниже 55,85% имелась повышенная вероятность развития спленомегалии. Чувствительность и специфичность показателя составили 71,4% и 72,7%, соответственно. У пациентов с ИП и числом тромбоцитов менее  $548,5 \cdot 10^9/\text{л}$  предполагалась большая вероятность наличия гепатомегалии с чувствительностью и специфичностью 83,3% и 71,4%, соответственно. У пациентов с ИП и концентрацией гемоглобина выше 159 г/л предполагалась большая вероятность гепатомегалии с чувствительностью и специфичностью 66,7% и 67,9%. Целесообразно по аналогии

с другими главами, посвященными представлению результатов, привести в заключении главы

В шестой главе представлены результаты анализа клинические особенности пациентов в зависимости от мутационного статуса. Драйверные мутации генов *JAK2*, *CALR* и *MPL* среди всех пациентов с *BCR::ABL* негативными МПН были выявлены у 61 (45,5%) пациента. При проведении секвенирования по Сэнгеру драйверные мутации были выявлены у 39 (64%) пациентов, а далее всем остальным пациентам с отсутствием драйверных мутаций была проведена мультиплексная аллель-специфичная ПЦР, по результатам которой еще у 22 (36%) пациентов были выявлены драйверные мутации с низкой аллельной нагрузкой. У пациентов с ЭТ, у кого была драйверная мутация гена при постановке диагноза чаще развивается спленомегалия, а при наличии драйверной мутации гена *CALR* наблюдается тренд к более частым кровотечениям, который, по-видимому, реализуется за счет более низкой RCo активности vWFи соотношения RCo/Ag vWF. У пациентов с тринегативным (ТН) генетическим статусом средний объем тромбоцита, процент содержания крупных тромбоцитов, фракция незрелых тромбоцитов, количество эритроцитов, гематокрит и количество незрелых гранулоцитов были ниже по сравнению с пациентами с драйверными мутациями, при исследовании тромбоэластограммы кинетика была статистически значимо ниже, а угол выше у ТН пациентов по сравнению с пациентами с драйверными мутациями. Активность vWF и соотношение его активности и антигена были выше при ТН генетическом статусе, средний диаметр и площадь тромбоцитов – ниже по сравнению с пациентами с наличием драйверной мутаций *JAK2*, *CALR* и *MPL*.

У пациентов с выявленной драйверной мутацией гена *JAK2* были выделены следующие характерные черты в лабораторных показателях: увеличен средний объем тромбоцита, процент содержания крупных тромбоцитов, фракция незрелых тромбоцитов, средние площадь, диаметр и минимальный диаметр тромбоцитов, а также количество эритроцитов и гематокрит по сравнению с пациентами с ЭТ без соответствующей мутации ( $p < 0,05$ ). При этом такие показатели как гемоглобин и антитромбин III были статистически значимо ниже ( $p < 0,05$ ) (таблица 6.24).

У детей и подростков с ЭТ при наличии драйверной мутации гена *CALR* также наблюдались определенные особенности в анализируемых лабораторных показателях: средний объем тромбоцита, процент содержания крупных тромбоцитов, количество незрелых гранулоцитов, тромбиновое время и антитромбин III были выше при наличии драйверной мутации гена *CALR* по сравнению с ее отсутствием, тогда как активность *vWF* и соотношение его активности и антигена – ниже. Вне зависимости от вида драйверной мутации, тромбоциты у пациентов с выявленными мутациями *JAK2/CALR* крупнее, а при наличии мутации *JAK2* характерно преобладание количества тромбоцитов с увеличенной площадью по сравнению с пациентами без соответствующих мутаций.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что драйверные мутации появляются по мере взросления пациентов, тогда как для грудного, предшкольного и дошкольного периодов более характерно их отсутствие.

У детей и подростков с ЭТ и драйверной мутацией гена *CALR* выявлены статистически значимые различия в количестве лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и активности *vWF* по сравнению с детьми и подростками с драйверной мутацией гена *JAK2*: число детей с лейкопенией и гемоглобином в пределах референтных значений было в 2,8 и 2,8 раза ниже, а количество эритроцитов и активность *vWF* в пределах референтных значений в 9,4 и 1,9 раза выше при наличии драйверной мутации гена *CALR* по сравнению с наличием драйверной мутации гена *JAK2*. При ТН генетическом статусе по сравнению с пациентами с наличием драйверной мутации гена *JAK2* лейкоцитоз, количество эритроцитов выше и гемоглобин в пределах референтных значений наблюдались в 3,1, 17,0 и 3,4 раза реже, а количество эритроцитов и гемоглобина ниже референсных значений и активность *vWF* в пределах референтных значений – в 8,6, 2,8 и 2,2 раза чаще.

Выявлено, что отсутствие драйверной мутации было более неблагоприятным в плане клинической симптоматики. Так, нарушения микроциркуляции при ТН генетическом статусе наблюдались в 2,35 раза чаще, кровоточивость – в 4,7 раза

чаще, а 2 и более симптома – в 4,7 раза чаще по сравнению с пациентами с наличием драйверной мутации гена *JAK2*.

Выявлено, что мутационный генетический статус влиял на показатели гемограммы. Так, тромбоцитоз и дефицит vWF выявлялись в 6,72 и 4,8 раза чаще, а концентрация гемоглобина выше и ниже нормы в 2,7 и 3,8 раза реже и чаще у пациентов с наличием драйверной мутации гена *JAK2* по сравнению с детьми и подростками без драйверной мутации.

У 58 (62,4%) пациентов был проведен анализ мутационного профиля Ph<sup>+</sup> МПН методом таргетного (NGS; n=7) и полногеномного (WGS; n=40) секвенирования, из которых у 26 (45%) были выявлены различные мутации.

У 2 пациентов была выявлена предрасположенность к опухолям (мутации гена *BLM*), у 3 человек с драйверной мутацией выявлена дополнительная другая герминальная, еще у 1 пациента помимо драйверной мутации гена *JAK2* выявлена соматическая мутация гена *ASXL2*, которая у взрослых является патогенной и фактором риска прогрессирования заболевания. Полиморфизмы неясного клинического значения выявлены у 14 пациентов (9 человек с ЭТ и 5 с ИП). У 6 пациентов выявлены варианты неясного клинического значения в генах *IDH1*, *BCR*, *CBL*, *PDGFRA*, *SH2B3*, *FLT3*, которые возможно имеют герминальную природу.

У 16 (39%) детей с ИП был проведен анализ мутационного профиля методом таргетного (NGS; n=7) и полногеномного (WGS; n=11) секвенирования, из которых у половины пациентов (8 чел.) были выявлены различные мутации.

При проведении полногеномного секвенирования у 1 пациента с драйверной мутацией гена *JAK2* была выявлена предрасположенность к опухолям (мутации гена *BLM*) и еще у 1 пациента помимо драйверной мутации гена *JAK2* выявлена мутация гена *SETBP1*. Полиморфизмы неясного клинического значения были выявлены у 5 пациентов с ИП.

Полученная информация является, несомненно, важной, и нуждается в накоплении так как позволит в будущем определять клиническое значение выявленных полиморфизмов и мутаций.

В главе семь представлены пересмотренные на основании результатов исследования критерии постановки диагноза и тактика ведения пациентов с классическими *BCR::ABL* негативными миелопролиферативными новообразованиями. При постановке диагноза «Эссенциальная тромбоцитемия» для детей и подростков количество тромбоцитов должно быть более  $400 \times 10^9/\text{л}$ , тогда как для взрослых данный показатель составляет  $450 \times 10^9/\text{л}$ . Остальные 3 больших критерия соответствуют рекомендациям ВОЗ. Малый критерий постановки данного диагноза у детей и подростков не включает другие клональные перестройки, которые у взрослых пациентов доказаны как часто встречающиеся при ЭТ (*ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1/IDH2*, *SRSF2*, или *SR3B1* мутации). Поиск, характеристика и роль вторичных клональных миелоидных перестроек у детей и подростков с ЭТ требует проведения дальнейших исследований и в настоящее время они не могут быть критерием постановки диагноза. При постановке диагноза «Истинная полицитемия» для детей и подростков было принято решение оставить 3 больших критерия, так же как при рекомендациях ВОЗ, однако по результатам исследования была показана высокая частота *JAK2*-негативных ИП, в связи с чем наличие *JAK* мутации в предлагаемых критериях мы сделали третьим большим критерием. Отсутствие *JAK* мутации позволяет установить диагноз ИП у детей при сочетании первых двух больших критериев и 2-х малых критериев. Представлены алгоритмы ведения для детей и подростков с эссенциальной тромбоцитемией и истинной полицитемией. Пациенты разделены на терапевтические группы в отношении которых предлагается проводить наблюдательную тактику, дезагрегационную или циторедуктивную терапию.

В восьмой главе проводится обсуждение полученных результатов и сравнение оригинальных данных с результатами других исследователей по данным литературных источников. В целом можно отметить схожесть полученных данных, но представляемое диссертационное исследование отмечается гораздо большей полнотой и системностью обследования включенных пациентов и позволяет исследовать гораздо больше взаимосвязей между клиническими, лабораторными и биологическими характеристиками пациентов и их заболеваний.

В данном исследовании были выделены основные особенности педиатрических Ph- МПН:

- случаи заболевания у детей в 1000 раз реже, чем у взрослых;
- большая распространенность ТН форм ЭТ;
- выделение отдельной JAK2-негативной ИП;
- низкая значимость оценки клеточности костного мозга.

В исследовании было обнаружено, что секвенирование по Сэнгеру, которое в настоящее время является стандартным методом для оценки драйверных мутаций, не выявляет их наличие при низкой аллельной нагрузке, которая у детей и подростков с *BCR::ABL* негативными МПН наблюдается достаточно часто, в исследовании аллельная нагрузка менее 20% (чувствительность секвенирования по Сэнгеру начинается от 20%) была у 64% пациентов (у 39 из 61 чел.). Поэтому при обследовании детей и подростков при диагностике Ph<sup>-</sup> МПН целесообразно использовать более чувствительную методику – мультиплексную аллель-специфичную ПЦР.

Полученные результаты позволили предложить оригинальный алгоритм генетической диагностики детей и подростков с подозрением на *BCR::ABL* негативные МПН, а также алгоритм диагностики истинной полицитемией у детей и подростков, алгоритм выбора тактики ведения для детей и подростков с истинной полицитемией, алгоритм диагностики эссенциальной тромбоцитемией у детей и подростков, алгоритм выбора тактики ведения для детей и подростков с эссенциальной тромбоцитемией.

Работа заканчивается девятью выводами, которые логично вытекают из результатов исследования и полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Практические рекомендации в количестве шести обоснованы фактическим материалом, их достоверность не вызывает сомнений и отражает суть проведенного научного исследования и полученных достижений и вполне могут быть внедрены в практическую работу врачей-онкологов.

Список литературы оформлен в соответствии с необходимыми правилами.

Автореферат содержит все основные положения диссертации, выводы и практические рекомендации, оформлен в соответствии с требованиями ВАК, написан хорошим литературным языком. Диссертация написана ясным языком, с использованием принятой терминологии. Замечаний по оформлению и содержанию диссертационной работы нет. Встречающиеся в работе стилистические погрешности и опечатки не влияют на ее научно-практическую ценность. Большим достоинством работы следует считать четкое и лаконичное изложение материала. Это позволяет легко проследить основные идеи и результаты диссертационной работы.

### **Внедрение результатов диссертации в практику**

Результаты исследований используются в работе ФГБУ «Национальный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

### **Заключение**

Диссертация Пшонкина Алексея Вадимовича «Классические *BCR::ABL* негативные миелопролиферативные новообразования у детей и подростков», представленная к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.28. – Гематология и переливание крови и 3.1.21 – Педиатрия, является завершенной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой приводится решение актуальной научной и научно-практической проблемы — характеристика эпидемиологии, клинических, лабораторно-инструментальных и генетических характеристик и их взаимосвязей при *BCR::ABL* негативных миелопролиферативных новообразований у детей и подростков. Диссертационное исследование выполнено на высоком методическом уровне и является первым по данной проблеме в отечественной практике, его результаты имеют несомненную научную новизну, теоретическую и практическую значимость и впервые определяют диагностическую тактику и подходы к курации данных заболеваний в педиатрической популяции.

По своей актуальности, объему проведенных исследований, научной новизне и научно-практической значимости полученных результатов, выводов и практических рекомендаций диссертационная работа А.В. Пшонкина полностью соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положение о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., № 842, со всеми изменениями и дополнениями в редакции постановлений Правительства РФ, предъявляемых к докторским диссертациям, а ее автор Пшонкин Алексей Вадимович заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.28 - Гематология и переливание крови и 3.1.21 - Педиатрия.

#### Официальный оппонент

доктор медицинских наук, заведующий отделением гематологии и химиотерапии МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр радиологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры гематологии и трансфузиологии им. И.А. Кассирского и А.И. Воробьева Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Министерства здравоохранения Российской Федерации,

*Шуваев*  
согласен на сбор, обработку,  
хранение и передачу

моих персональных данных

**Шуваев Василий Анатольевич**

*25 февраля 2020 г.*

*Юдмила Шуваева Касимовна Манжалева заверяю.  
Заведующий отделением гематологии - Манжалева О.И.  
25.02.2020 г.*



Контактная информация: МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России

Адрес: 249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, д. 4

Телефон: +7(800)250-87-00

E-mail: [mrrc@mrrc.obninsk.ru](mailto:mrrc@mrrc.obninsk.ru)

## СВЕДЕНИЯ

### об официальном оппоненте

докторе медицинских наук Шуваеве Василии Анатольевиче по диссертации Пшонкина Алексея Вадимовича на тему «Классические BCR::ABL негативные миелопролиферативные новообразования у детей и подростков», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.28 – Гематология и переливание крови, 3.1.21 – Педиатрия

Ф.И.О.	Год рождения, гражданство	Место работы, должность	Ученая степень (шифр специальности, по которой защищалась диссертация)	Ученое звание (по специальности или по кафедре)	Список основных публикаций в рецензируемых научных изданиях по теме оппонируемой диссертации
Шуваев Василий Анатольевич	1977 Российская Федерация	заведующий отделением гематологии и химиотерапии МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ "НМИЦ радиологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации	Доктор медицинских наук по специальности 3.1.28. (14.00.21) Гематология и переливание крови	Профессор кафедры гематологии и трансфузиологии и им. И.А. Кассирского и А.И. Воробьева ФГБУ ДПО "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования"	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Jabbour E, Oehler VG, Koller PB, Jamy O, Lomaia E, Hunter AM, Uspenskaya O, Samarina S, Mukherjee S, Cortes JE, Baer MR, Zherebtsova V, <b>Shuvaev V</b>, Turkina A, Davydkin I, Guo H, Chen Z, Fu T, Jiang L, Wang C, Wang H, Yang D, Zhai Y, Kantarjian H. Olverembatinib After Failure of Tyrosine Kinase Inhibitors, Including Ponatinib or Asciminib: A Phase 1b Randomized Clinical Trial. JAMA Oncol. 2025 Jan 1;11(1):28-35. doi: 10.1001/jamaoncol.2024.5157. PMID: 39570620; PMCID: PMC11583018.</li> <li>2) Кириенко А.Н., Мотыко Е.В., Ефремова Е.В., Кустова Д.В., Герт Т.Н., Леппянен И.В., <b>Шуваев В.А.</b>, Мартынкевич И.С. Изучение мутационного профиля больных Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями методом NGS. Медицина экстремальных ситуаций. 2025;27(1):80-87. <a href="https://doi.org/10.47183/mes.2024-241">https://doi.org/10.47183/mes.2024-241</a>.</li> <li>3) Elias Jabbour, Omer Jamy, Paul B. Koller, Vivian G. Oehler, Maria R. Baer, Elza Lomaia, Anthony M. Hunter, Olga</li> </ol>

		<p>Федерации, профессора кафедры гематологии и трансфузиоло гии им. И.А. Кассирского и А.И. Воробьева ФГБУ ДПО "Российская медицинская академия непрерывного профессионал ьного образования" Министерства здравоохране ния Российской Федерации</p>		<p>образования" Министерства здравоохранени я Российской Федерации</p>	<p>Uspenskaya, Svetlana Samarina, Jorge E. Cortes, Sudipto Mukherjee, Dennis Dong Hwan Kim, Vera Zherebtsova, <b>Vasily Shuvaev</b>, Anna Turkina, Igor Davydkin, Huanshan Guo, Zi Chen, Hengbang Wang, Tommy Fu, Lixin Jiang, Zhihong Yang, Cunlin Wang, Dajun Yang, Yifan Zhai, Hagop Kantarjian; Olverembatinib (HQP1351) Overcomes Resistance/Intolerance to Asciminib and Ponatinib in Patients (pts) with Heavily Pretreated Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia (CP-CML): A 1.5-Year Follow-up Update with Comprehensive Exposure-Response (E-R) Analyses. Blood 2024; 144 (Supplement 1): 3151. doi: <a href="https://doi.org/10.1182/blood-2024-207139">https://doi.org/10.1182/blood-2024-207139</a></p> <p>4) <b>Шуваев В.А.</b>, Мартынкевич И.С. Как мы лечим истинную полицитемию // Онкогематология. - 2024. - Т. 19. - №1. - С. 21-39. doi: <a href="https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-1-21-39">10.17650/1818-8346-2024-19-1-21-39</a></p> <p>5) Кустова Д.В., Мотыко Е.В., Кириенко А.Н., Герт Т.Н., Леппянен И.В., Бакай М.П., Ефремова Е.В., Морозова Е.В., Ломаиа Е.Г., <b>Шуваев В.А.</b>, Сидоркевич С.В., Мартынкевич И.С. Ретроспективный анализ собственного многолетнего опыта исследования мутационного статуса киназного домена гена BCR::ABL у пациентов с хроническим миелолейкозом // Онкогематология. - 2024. - Т. 19. - №3. - С. 45-60. doi: <a href="https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-3-45-60">https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-3-45-60</a>.</p> <p>6) Elias Jabbour, Vivian G. Oehler, Paul B. Koller, Omer Jamy, Elza Lomaia, Anthony M. Hunter, Olga Uspenskaya, Svetlana Samarina, Sudipto Mukherjee, Jorge E. Cortes, Maria R. Baer, Vera Zherebtsova, <b>Vasily Shuvaev</b>, Anna Turkina, Igor Davydkin, Huanshan Guo, Zi Chen, Tommy Fu, Lixin Jiang,</p>
--	--	---	--	--	---

					<p>Cunlin Wang, Hengbang Wang, Dajun Yang, Yifan Zhai, Hagop Kantarjian, CML-400 Olverembatinib (HQP1351) Overcomes Ponatinib and/or Asciminib Resistance in Patients With Heavily Pretreated/Refractory Chronic Myeloid Leukemia (CML) and Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia (Ph+ ALL), Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia, Volume 24, Supplement 1, 2024, Page S371. doi: <a href="https://doi.org/10.1016/S2152-2650(24)01313-2">https://doi.org/10.1016/S2152-2650(24)01313-2</a>.</p> <p>7) <b>Шуваев В.А.</b>, Мартынкевич И.С. , Кустова Д.В., Барам Д.В. СИСТЕМНЫЕ МАСТОЦИТОЗЫ - УЖЕ НЕ РЕДКОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ В ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ (ЛЕКЦИЯ), ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ, том XX, № 4, 2024 стр. 44-60</p> <p>8) <b>Шуваев В.А.</b>, Мартынкевич И.С., Кустова Д.В., Байков В.В., Криволапов Ю.А., Белякова Е.А., Барам Д.В. ХРОНИЧЕСКИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫЙ ЛЕЙКОЗ И АТИПИЧНЫЙ ХРОНИЧЕСКИЙ МИЕЛОЛЕЙКОЗ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) ВЕСТНИК ГЕМАТОЛОГИИ, том XIX, № 2, 2023 стр. 30- 44</p> <p>9) Кириенко А.Н., Мотыко Е.В., Кустова Д.В., Лепянен И.В., Герт Т.Н., Ефремова Е.В., <b>Шуваев В.А.</b>, Сидоркевич С.В., Мартынкевич И.С. Секвенирование следующего поколения (NGS) у Ph-негативных пациентов с миелопролиферативными новообразованиями, Вестник гематологии. 2023. Т. XIX. № 2. С. 81-82.</p> <p>10) Elza Lomaia, Tamara Chitanava, Yulia Vlasova, Dmitry Motorin, Sergey Voloshin, Darina Zammoeva, Renat Badaev, Yulia Matvienko, Elizaveta Efremova, Ekaterina Mileeva, Nadia Siordia, Olga Kulemina, Eugenia Sbityakova, Natalia Lazorko, Julia Alexeeva, Irina Martynkevich, Elena Karyagina, Natalia</p>
--	--	--	--	--	--

					Ilyina, Nadezhda Medvedeva, Natalia Dorofeeva, Tatiana Shneider, Svetlana Stepanova, <b>Vasily Shuvaev</b> , Elena Morozova; Comparative Characteristics of the Effectiveness of Tyrosine Kinase Inhibitors Vs Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in the Chronic Phase of Chronic Myeloid Leukemia. Blood 2022; 140 (Supplement 1): 12192–12193. doi: <a href="https://doi.org/10.1182/blood-2022-163506">https://doi.org/10.1182/blood-2022-163506</a>
--	--	--	--	--	---

Не являюсь членом экспертной комиссии ВАК. На обработку персональных данных согласен.

**доктор медицинских наук, заведующий отделением гематологии и химиотерапии МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр радиологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации Шуваев Василий Анатольевич**

Подпись доктора медицинских наук, Шуваева В.А. заверяю:

*заведующий отделом кадров  
12 января 2026г.*



*[Handwritten signature]*  
*О. В. Шевкина*

**Контактная информация**

Адрес места работы: 249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, дом 4

Телефон 89216365472

Электронная почта [shuvaev77@mail.ru](mailto:shuvaev77@mail.ru)