

О Т З Ы В

официального оппонента доктора медицинских наук, доцента

Арсентьева Вадима Геннадиевича на диссертацию

Пономарёва Виктора Сергеевича «Особенности геморрагического синдрома у детей на фоне носительства протромботических полиморфных вариантов

генов», представленную на соискание ученой степени кандидата

медицинских наук по специальности: 3.1.21. Педиатрия

Актуальность темы диссертации

Исследование Виктора Сергеевича Пономарёва продолжает цикл научных работ научной школы Барнаула и традиционно посвящено научному обоснованию сочетаний геморрагического синдрома тромбофилий у детей. Геморрагический синдром у детей – одна из актуальных проблем педиатрии, которая ассоциируется с тяжелыми осложнениями и серьезными нарушениями здоровья ребенка. Дети, страдающие врожденными тромбофилиями, могут в определенные периоды детства страдать проявлениями повышенной кровоточивости. Родоначальником изучения данной сложной и противоречивой проблемы был Зиновий Соломонович Баркаган, и данная работа продолжает это сложнейшее направление, конечно, уже на совсем ином уровне развития науки. Мне неоднократно приходилось рецензировать работы гематологов Барнаула, и во всех прослеживалась глубокая и далеко идущая мысль Зиновия Соломоновича, которую развивает его школа. Таким образом, научная новизна и актуальность работы не вызывает сомнений.

Объект и предмет исследования

За основу методологической базы для проведенного исследования были взяты научные труды зарубежных и отечественных специалистов (педиатров, гематологов, генетиков и неврологов) в области изучения системы гемостаза, диагностики тромбофилических состояний и генетической предрасположенности к тромбофилии. Для выполнения поставленных задач были сформированы группы пациентов с наличием и



отсутствием геморрагического синдрома для исследования распространенности однонуклеотидных замен в генах, регулирующих гемостаз и фолатный обмен.

В исследовательскую разработку вошли 422 ребенка с проявлениями кровоточивости по микроциркуляторному типу от 0 до 18 лет (средний возраст – $11,8 \pm 4,74$), из них мальчиков – 287 (68 %), девочек – 135 (32 %), постоянно проживающих в Алтайском крае. Группу контроля составили 115 детей (I–II группы здоровья из них: мальчиков – 61 (53,0 %), девочек – 54 (47,0 %), сопоставимых по полу, возрасту, численности больных.

Проведено исследование 8 однонуклеотидных замен в генах, регулирующих гемостаз. Исследованы 4 однонуклеотидные замены в генах, регулирующих фолатный обмен. Были определены параметры плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза. При оценке агрегационной функции тромбоцитов на различные индукторы установлено, что в исследуемой группе эти показатели были достоверно ниже, при сравнении с контрольной ($p < 0,001$). Уровень фактора Виллебранда был значимо выше в исследуемой группе ($p < 0,001$), чем в группе сравнения. Выявление особенностей дисплазии соединительной ткани проводили по методике Т. И. Кадуриной.

Достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Отягощенный семейный тромбофобический и геморрагический анамнез чаще выявлялся у детей с проявлениями микроциркуляторной кровоточивости в виде инсультов (7,7 %), инфарктов (4,0 %), сосудистых тромбозов (2,2 %). Основными клиническими проявлениями геморрагического синдрома у детей исследуемой группы явились носовые кровотечения (63,7 %), десневые кровотечения (8,0 %), кровоизлияние в склеру глаза (3,4 %), склонность к повышенному образованию петехий, экхимозов (16,2 %), обильные и длительные кровотечения у девочек пубертатного возраста в период менструального цикла (5,4%) и сосудистые события. Внешние фенотипические проявления дисплазии соединительной ткани чаще регистрировались у детей исследуемой группы в виде:

микроциркуляторных кровотечений (79,8 %), выраженного кифоза (19,9 %), аномалии прорезывания зубов (16,8 %), плоскостопия (13,7 %), видимой венозной сети (10,1 %), гипермобильности суставов (4,4 %). Наиболее частые висцеральные проявления дисплазии соединительной ткани были со стороны органов зрения (35,7 %) и пролапса митрального клапана (11,8 %).

Определено, что у мальчиков и девочек с проявлением кровоточивости минорный аллель A(-455) FGB достоверно чаще регистрировался у девочек ($p < 0,05$). Кроме того, удалось выявить, что минорный аллель C1565 GPIIIa статистически значимо больше выявлялся у мальчиков с проявлением геморрагического синдрома ($p = 0,003$). У девочек с проявлением кровоточивости достоверно чаще выявлялись минорные аллели T(807) ITGA2 и 4G(-675) PAI-1 при сравнении с девочками группы контроля ($p < 0,05$). Изучение распространенности однонуклеотидных замен в генах, регулирующих гемостаз, позволило установить, что редкий гомозиготный генотип 807TT гена ITGA2 и (-675) 4G/4G гена SERPINE1 значимо выше фиксировался у детей с признаками кровоточивости ($p < 0,05$). При сравнении мальчиков с проявлением и без проявления кровоточивости удалось выявить, что гомозиготный генотип (редкий аллель) (-675) 4G/4G гена PAI-1 значимо выше выявлялся в группе детей с геморрагическим синдромом ($p = 0,0014$). Сравнительный анализ двух групп девочек с наличием и отсутствием геморрагического синдрома выявил, что однонуклеотидная замена в Htzg варианте гена SERPINE1 чаще регистрировалась у здоровых девочек ($p = 0,045$), а гомозиготный генотип (редкий аллель) чаще выявлялся в группе с микроциркуляторным типом кровоточивости ($p = 0,0052$). Распределение встречаемости частот аллелей и генотипов у детей с микроциркуляторным типом кровоточивости выявило, что имеется отклонение от уравнения Харди-Вайнберга для частоты генотипа C807T гена ITGA2-тромбоцитарного рецептора к коллагену ($\chi^2 = 13,900$; $p = 0$): наблюдаемая частота редкого гомозиготного генотипа 807 TT гена ITGA2 (N.O.=31,5 %) в 1,5 раза больше ожидаемой частоты изученного гена ITGA2 (N.E.=21,8 %).

Изучение распространенности однонуклеотидных замен в аллелях и генах, регулирующих фолатный метаболизм у пациентов с учетом половых особенностей, показал, что мажорный аллель A66 MTRR достоверно чаще регистрировался у девочек ($p < 0,05$), а минорный аллель G 66 MTRR у мальчиков. Сравнение двух групп девочек с проявлением и отсутствием геморрагического синдрома показало, что мажорный аллель A66 MTRR достоверно чаще регистрировался у девочек исследуемой группы ($p = 0,029$), в то же время минорный аллель G 66 MTRR значимо выше фиксировался в группе контроля ($p = 0,004$). Определено, что в группе мальчиков с наличием кровоточивости мажорный аллель A66 MTRR регистрировался значимо чаще при сравнении со здоровыми мальчиками ($p = 0,022$).

Выявлено, что в группе здоровых детей гомозиготный генотип 66 GG MTRR выявлялся достоверно чаще. Вместе с тем, прием фолиевой кислоты существенно уменьшает уровень гомоцистеина в плазме крови и значимо приводит к увеличению уровня качества жизни по шкалам социального функционирования, чем в группе детей с проявлением кровоточивости.

Представлена методика отбора пациентов с наличием проявлений кровоточивости в группу риска по сосудистым осложнениям. Доказательно установлено наличие у пациентов с признаками кровоточивости диагностически значимых факторов риска, которые могут способствовать реализации сосудистых осложнений. В результате проделанных расчетов сформирована прогностическая таблица, критерии которой позволяют отобрать пациентов в группу риска по сосудистым осложнениям среди детей, имеющих признаки геморрагического синдрома. Таблица обладает большой степенью специфичности, умеренными величинами чувствительности и диагностической значимости положительного результата, количество неверных результатов может составлять не более 5 %.

**Новизна научных положений, выводов и рекомендаций,
изложенных в диссертации**

Впервые среди детей с проявлениями кровоточивости показана роль

влияния тромбогенных однонуклеотидных замен в генах системы гемостаза, генов фолатного метаболизма на развитие тромботических событий. Обнаружено, что встречаемость редкого аллеля A(-455) гена FGB, минорного аллеля T(807) гена ITGA2 и минорного аллеля 4G(-675) PAI-1 чаще регистрировалась у детей с проявлением кровоточивости при сравнении с группой контроля ($p < 0,05$). Зафиксировано, что комбинация из 7 гетерозигот в компаундном состоянии значимо выше выявлялась в группе детей с проявлением кровоточивости ($p = 0,024$). У детей с проявлением геморрагического синдрома в большинстве случаев встречается сочетание патологического гомозиготного генотипа PAI-1 с гетерозиготными и нормальными гомозиготными полиморфизмами F7 и F13 факторов ($p < 0,05$).

Научная и практическая значимость исследования

Результаты, полученные в ходе исследования, пополняют современные данные о распространенности генетических полиморфизмов и их влияние на реализацию тромботических событий у детей с геморрагическим синдромом. Расширены теоретические знания о комбинациях полиморфных генов тромбофилии среди детского населения. Установлено, что у детей с наличием кровоточивости возможна реализация тромбозов при носительстве ген-генных ассоциаций полиморфизмов генов тромбофилии, генов ферментов фолатного цикла, а также мультифакторной патологии, которая включает: сопутствующие соматические заболевания, нарушение сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, проявление дисплазии соединительной ткани.

Разработанная прогностическая шкала способствует объективной оценке степени риска сосудистых осложнений у детей, что дает возможность своевременно установить диагноз, выбрать оптимальную тактику ведения пациентов и снизить нежелательные последствия. Предложенный способ прогнозирования, разработанный на основании выявленных клинических, лабораторных и генетических предикторов, позволяет с высокой степенью вероятности прогнозировать развитие сосудистых осложнений.

Полученные результаты при оценке предикторов тромбогенного риска

и разработанная прогностическая шкала предоставляют возможность для профилактики сосудистых событий. Апробированный метод необходимо использовать в работе при формировании профилактических и лечебных программ в педиатрии с целью повышения оказания медицинской помощи.

Степень достоверности и апробация работы

Степень достоверности результатов, полученных в ходе выполнения работы, определяется анализом первичной медицинской документации. Все этапы обследования больных и динамическое наблюдение отражены в электронной базе данных. В работе использованы статистические методы, адекватные поставленным цели и задачам исследования. Сформулированные выводы логически вытекают из анализа полученных результатов.

Содержание диссертации

Диссертационное исследование представляет собой рукопись, которая изложена на 172 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 51 таблицей, 6 рисунками. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы в количестве 225, включающего 157 отечественных и 68 зарубежных источников. По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 6 научных статей в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Получены 3 свидетельства о регистрации баз данных. Основные результаты работы были представлены на 10 региональных, Всероссийских и Международных форумах. Результаты исследования внедрены в практическую работу. Выводы и практические рекомендации соответствуют поставленным целям и задачам.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и отражает её основные положения, результаты и выводы, даёт полное

представление о работе. При анализе диссертационной работы сформировались замечания, не отражающиеся на ее качестве:

1. В тексте произвольно трактуются и применяются неутвержденные термины, касающиеся дисплазий соединительной ткани: «недифференцированная дисплазия соединительной ткани», «гематомезенхимальная дисплазия», «дисфункция соединительной ткани»;

2. В работе не учтен или не отражен огромный опыт профессора Александры Владимировны Суворовой, стоявшей у истоков данной проблемы: сочетания геморрагического и тромботического синдромов и их связи с полиморфизмами ряда генов;

3. Список литературы, особенно в иностранной ее части содержит большое число недостаточно современных источников.

В качестве дискуссии хотелось бы задать вопросы:

1. Какие генотипы необходимо учитывать, чтобы ребенка отнести в группу высокого тромбогенного риска?
2. Что с Вашей точки зрения является первичным в онтогенезе тромботических событий – наличие полиморфизма в генах системы гемостаза и фолатного цикла либо наследственно-детерминированная соединительнотканная патология (мезенхимальная дисплазия)?

Заключение

Диссертация Пономарёва Виктора Сергеевича «Особенности геморрагического синдрома у детей на фоне носительства протромботических полиморфных вариантов генов», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.1.21. Педиатрия, выполнена на высоком методическом уровне, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи – раннего доклинического формирования группы риска по сосудистым осложнениям у детей с проявлениями кровоточивости, что позволит управлять состоянием тромботической готовности и своевременного принятия мер первичной профилактики.

По актуальности, научной новизне и практической значимости полученных данных, объему проведенных исследований, количеству публикаций диссертационная работа Пономарёва Виктора Сергеевича полностью соответствует критериям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.21. Педиатрия.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой детских болезней ФБГБВОУ ВО

«Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»

Министерства обороны Российской Федерации

доктор медицинских наук, доцент

 Арсентьев Вадим Геннадиевич

Даю согласие на сбор, обработку и хранение персональных данных

 Арсентьев В.Г.

16 октября 2024

Подпись Арсентьева В.Г. заверяю



Старший помощник
начальника отдела кадров
Военно-медицинской академии
тан

И.Климов

16.10.2024

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия

имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

194044, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Академика

Лебедева, д. 6, Тел.: +7(812)229-32-73; <https://www.vmeda.org/>; email:

vmeda-nio@mil.ru