

ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора медицинских наук, профессора, академика РАН Франка Георгия Авраамовича на диссертационную работу Асауленко Захара Павловича «Дифференциальная характеристика мегакариоцитарного ростка миелоидной ткани в биопсиях костного мозга при первичном миелофиброзе и эссенциальной тромбоцитемии с мутациями в гене *JAK2* или *CALR*», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2. Патологическая анатомия

Актуальность исследования

Изучение патоморфологических изменений в кроветворных органах и крови дали основания W. Dameshek в 1951 году сформулировать первую систему классификации миелопролиферативных новообразований и объединить первичный миелофиброз и эссенциальную тромбоцитемию в одну группу. Эта классификация неоднократно подвергалась пересмотру по мере накопления новых знаний о природе миелопролиферативных заболеваний. Согласно 5-му изданию Классификации ВОЗ опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей (2022 г.) постановка диагноза первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии имеет критериальный принцип и основывается на совокупности данных морфологического и гистохимического, молекулярно-генетического и клинико-лабораторного исследований. Патоморфологическая дифференциальная диагностика первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии субъективна и плохо воспроизводима, что связано со сложностью организации миелоидной ткани и большим количеством качественных и количественных гистологических характеристик, которые необходимо комплексно оценивать. Среди них основные – изменения толщины и формы костных балок, доля миелоидной ткани в объеме межбалочных пространств, состояние гранулоцитарного, эритроидного и мегакариоцитарного ростков, наличие и степень выраженности ретикулинового и коллагенового фиброза, остеосклероза. Дифференциальному диагнозу первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии придается исключительное значение, так как его результат служит важнейшим независимым фактором прогноза, имеет предсказательное значение в отношении возможных осложнений и влияет на выбор тактики лечения. По данным литературы медиана общей выживаемости в случаях префибротической стадии первичного миелофиброза составляет 14,7 лет, в случаях фибротической стадии она существенно ниже – 7,2 года, а у больных эссенциальной тромбоцитемией составляет 30,2 года. В 5-м издании Классификации ВОЗ опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей мутации в гене *JAK2* или *CALR* относятся к «большим» критерием диагностики первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии. Изучение *JAK2* и *CALR* позитивных случаев представляет значительный интерес, так как эти две взаимоисключающие мутации встречаются более чем у 80% больных. Мутации в гене *JAK2* или *CALR* служат не только диагностически значимым критерием, но и имеют прогностическую значимость, способны определять фенотипические проявления заболевания.

В качестве предмета исследования диссертационной работы выбрана сложная и актуальная тема – объективизация и стандартизация характеристик ростков гемопоэза в трепанобиоптатах костного мозга, качественный и количественный анализ особенностей гистоархитектоники костной и миелоидной ткани с учетом молекулярно-генетического профиля (наличие мутации в гене *JAK2* или *CALR*) и клинико-лабораторной информации, а также разработка дополнительных дифференциальных характеристик мегакариоцитарного ростка, позволяющих отличить первичный миелофиброз от эссенциальной тромбоцитемии. Тема диссертации З.П. Асауленко имеет большое научно-практическое значение для здравоохранения еще и по той причине, что выполненный морфометрический и гистотопографический анализ оцифрованных трепанобиоптатов костного мозга может быть использован в разработке новых методов анализа гистологических препаратов с помощью машинного обучения, позволяющих облегчить диагностическую задачу для врача-патологоанатома с помощью систем поддержки принятия решений, а также обеспечить большее межисследовательское согласие.

Научная новизна диссертационного исследования

На материале трепанобиоптатов костного мозга больных первичным миелофиброзом в префибротической и фибротической стадиях, а также пациентов с эссенциальной тромбоцитемией охарактеризованы различия типовых изменений костного мозга, а также качественных и количественных аномалий мегакариоцитарного ростка с учетом нозологической формы, стадии заболевания и мутационного статуса. Получены данные сравнительного морфометрического анализа мегакариоцитов и гистотопографической оценки мегакариоцитарного ростка, позволившие разработать дополнительный дифференциальный признак первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии – пороговое число CD42b позитивных мегакариоцитов в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 400$. По данным анализа медицинской документации выявлены клинико-лабораторные особенности первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии с мутацией в гене *JAK2* или *CALR*.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на многочисленных всероссийских и международных научных форумах. Материалы диссертации опубликованы в 22 научных трудах, из них 2 в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Получены 2 патента на изобретение по теме диссертации.

Структура, содержание и оценка диссертационной работы

Диссертационная работа З.П. Асауленко изложена на 177 страницах машинописного текста. Работа построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов работы, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы, включающего 192 источника. Иллюстративный материал представлен 39 таблицами и 64 рисунками, в том числе, микрофотографиями высокого качества.

Формулировка задач соответствует поставленной цели. Во введение включены разделы «научная новизна», «практическая значимость» и «положения, выносимые на защиту».

В главе 1 «Обзор литературы» представлен анализ отечественных и зарубежных литературных источников. Дана краткая историческая справка, представлен современный подход к диагностике первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии, охарактеризован молекулярный патогенез Rh-негативных миелопролиферативных новообразований, подробно описаны проблемы воспроизводимости гистологических критериев ВОЗ в группе миелопролиферативных новообразований, обоснована целесообразность разработки научных вопросов, лежащих в основе диссертационного исследования. В главе 2 «Материалы и методы» описаны принципы формирования исследуемых групп больных, перечислены критерии включения пациентов, детально представлена методика патоморфологического исследования костного мозга, подробно изложены принципы анализа морфометрических аномалий мегакариоцитов и гистотопографических характеристик мегакариоцитарного роста в срезах костного мозга, окрашенных гематоксилином/азуром II и эозином, а также в реакции с антителами к CD42b. Для решения поставленных задач исследован материал диагностических трепанобиоптатов костного мозга 63 больных первичным миелофиброзом и 59 пациентов с эссенциальной тромбоцитемией. Глава 3 представляет собой детальное изложение результатов проведенного исследования. Глава написана обстоятельно, разбита на разделы и содержит достаточное количество таблиц и рисунков. В главе приведены клиничко-лабораторные характеристики больных, включенных в исследование, изложены собственные результаты анализа патоморфологических изменений миелоидной ткани в трепанобиоптатах костного мозга. Автору удалось продемонстрировать количественные, пространственные и цитологические различия аномалий мегакариоцитарного роста в трепанобиоптатах костного мозга у больных первичным миелофиброзом и эссенциальной тромбоцитемией с мутацией в гене *JAK2* или *CALR*. Особого внимания заслуживают разработанный автором на основе результатов иммуногистохимического исследования дополнительный дифференциальный патоморфологический признак этих двух заболеваний – пороговые значения количества CD42b позитивных мегакариоцитов в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 400$. В главе 4 «Обсуждение» автор, опираясь на представленные в современной литературе данные, обобщает полученные результаты. Глава написана с пониманием актуального состояния проблемы дифференциальной диагностики первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии. Большое внимание уделено критериальному характеру диагностики этих заболеваний. Описана значимость определения драйверных мутаций не только в диагностических, но и прогностических целях. Автором отражена связь между мутационным статусом и фенотипом опухолевого клона; продемонстрировано, что в случаях недостаточного количества катamnестических сведений и клиничко-лабораторных данных, возможности патоморфологической дифференциальной диагностики случаев первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии могут быть ограничены.

Диссертация завершается лаконичным и чётко структурированным заключением, в котором систематизированы основные результаты исследования. Выводы полностью соответствуют поставленной цели и задачам работы, сформулированы ясно и содержательно, отражая ключевые данные. Представлены практические рекомендации, обладающие значимой ценностью для врачей-патологоанатомов. Определены перспективы дальнейшего развития темы.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Цель, задачи диссертационного исследования, а также выводы и практические рекомендации обоснованы фактическими материалами исследования, носят конкретный характер и не вызывают возражений. Результаты получены на достаточном объеме материала с использованием современной методологической и методической базы, в том числе адекватных приемов статистического анализа.

На защиту выносятся четыре положения:

Первое положение констатирует наличие связи между мутационным статусом и клинико-лабораторной картиной первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии. Так, мутации в гене *CALR* у больных первичным миелофиброзом и эссенциальной тромбоцитемией ассоциированы с молодым возрастом и более высоким уровнем тромбоцитов в общем анализе крови, в то время как мутации в гене *JAK2* связаны с более выраженным лейкоцитозом, эритроцитозом, повышенными показателями гемоглобина и большей долей случаев со спленомегалией. Первое положение представляет собой результат анализа клинико-лабораторной информации по данным медицинской документации пациентов, включенных в исследование, и подтверждено данными статистического анализа.

Во втором положении автор утверждает, что диагностические трепанобиоптаты костного мозга больных первичным миелофиброзом и эссенциальной тромбоцитемией достоверно различаются по следующим характеристикам: количество, размеры и характер мегакариоцитарных скоплений, аномалии строения ядер мегакариоцитов, а также доля миелоидной ткани, лейко-эритробластическое соотношение, степень выраженности ретикулинового и коллагенового фиброза, остеосклероза. Комплексная оценка изменений этих признаков позволяет проводить патоморфологическую дифференциальную диагностику *JAK2* или *CALR* позитивных случаев первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии. Это положение подтверждается фактическими материалами работы, которые основаны на тщательном анализе патоморфологических изменений в трепанобиоптатах костного мозга, статистически обосновано.

В третьем положении автор указывает на наличие ассоциации между мутацией в гене *CALR* и степенью выраженности гиперплазии мегакариоцитарного ростка в миелоидной ткани. Результаты гистотопографического анализа мегакариоцитарного ростка свидетельствуют о том, что характеристики пространственного расположения мегакариоцитов и особенности их строения в случаях *CALR*-позитивной эссенциальной тромбоцитемии имеют наибольшее сходство с первичным миелофиброзом в префибротической стадии. Положение основано на фактических материалах работы, подтверждено данными статистического анализа.

В четвёртом положении автор доказывает, что анализ, маркированного антителами к CD42b, мегакариоцитарного ростка может служить дополнительным критерием дифференциальной диагностики первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии. Это положение подтверждено результатами морфометрического и гистотопографического анализа цифровых копий трепанобиоптатов костного мозга,

обосновано современными и соответствующими поставленной задаче статистическими методами.

Научно-практическая значимость и внедрение результатов исследования

Результаты диссертационной работы необходимо рекомендовать к применению в патологоанатомических отделениях медицинских организаций, специализирующихся на оказании медицинской помощи по профилю «гематология». Результаты проведенного гистотопографического, морфометрического и иммуногистохимического исследования костного мозга больных первичным миелофиброзом и эссенциальной тромбоцитемией используются в диагностической работе патологоанатомического отделения клинической молекулярной морфологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, патологоанатомического отделения СПб ГБУЗ «Городская Больница № 40», патологоанатомического отделения ГБУЗ ЛОКБ, патологоанатомического отделения КГБУЗ ККПАБ, патологоанатомического отделения ООО «Лаборатория Гемотест».

Недостатки по содержанию и оформлению работы

Работа выполнена на высоком методическом и профессиональном уровне. Существенных замечаний по смыслу и содержанию выполненного исследования, выбору методических подходов, обоснованности положений и выводов, практической и теоретической значимости нет. На основе результатов сформулированы выводы (их четыре), которые логично вытекают из представленных диссертационных материалов. Принципиальных замечаний по структуре диссертации не имею.

В порядке дискуссии хотел бы задать следующие вопросы:

1. Поясните различия между понятиями «мегакариоцитарная атипия» и «мегакариоцитарная дисплазия», встречающиеся в тексте диссертации на стр. 32–33.
2. Каковы перспективы внедрения алгоритмов искусственного интеллекта в патоморфологическую дифференциальную диагностику Ph-негативных миелопролиферативных новообразований с учетом объективной трудности техники гистологической обработки трепанобиоптатов костного мозга, что связано с отсутствием стандартизации и систематического контроля качества преаналитического, аналитического и постаналитического этапов?

Заключение

Диссертационное исследование Асауленко Захара Павловича «Дифференциальная характеристика мегакариоцитарного роста миелоидной ткани в биопсиях костного мозга при первичном миелофиброзе и эссенциальной тромбоцитемии с мутациями в гене *JAK2* или *CALR*», выполненное под руководством Заслуженного врача Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора, заведующего патологоанатомическим отделением клинической молекулярной морфологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Юрия Александровича Криволапова по специальности 3.3.2. Патологическая анатомия, представляет собой заверченный научно-квалификационный труд, имеющий существенное фундаментальное и научно-практическое значение – решение задачи объективизации и стандартизации патоморфологической дифференциальной диагностики

По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, научной и практической значимости полученных результатов, представленная работа полностью соответствует требованиям п. 9–14, п. 23 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 16 октября 2024 г. № 1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Асауленко Захар Павлович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2. Патологическая анатомия.

Доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой патологической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Франк Георгий Авраамович

Подпись доктора медицинских наук, профессора, академика РАН
Франка Георгия Авраамовича **заверяю:**

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор

(подпись)

«24» ноября 2025 г.

6