

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО
«Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский
университет имени акад. И.П. Павлова»

Министерства здравоохранения
Российской Федерации

доктор медицинских наук, профессор



А.Д. Кулагин

А.Д. Кулагин

«05» *ноября*

2025 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Асауленко Захара Павловича на тему: «Дифференциальная характеристика мегакариоцитарного роста 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 темы диссертации

Концепция миелопролиферативных заболеваний была сформулирована У. Дамешком в 1951 г. Он охарактеризовал эти заболевания как «более или менее различные варианты клеточной пролиферации в костном мозге». Из этих «более или менее различных вариантов» в течение полувека формировались самостоятельные нозологические формы, изменилась терминология, была открыта генетическая основа опухолевой трансформации (во многом общая для трех нозологических форм) и

разработаны подходы к лечению. Представление о нозологической самостоятельности первичного миелофиброза, истинной полицитемии и эссенциальной тромбоцитемии строится на совокупности морфологических, фенотипических и генетических профилей. Результаты патологоанатомического исследования трепанобиоптатов костного мозга в 2017 г. включены в перечень главных критериев диагностики всех МПН (ВОЗ). Однако до настоящего времени неизвестно, чем определяется нозологическая специфика указанных заболеваний, и даже неясно, насколько они действительно самостоятельны. Тем не менее, от диагноза зависит прогноз — риски прогрессии и развития осложнений, что в свою очередь определяет время начала и характер терапии. Единственной технологией, потенциально излечивающей МПН, является трансплантация костного мозга, но поскольку риск операции высок, показания к ней должны быть определены максимально точно. Таким образом, своевременная и точная диагностика различных форм МПН является чрезвычайно актуальной задачей для патологической анатомии.

Патологоанатомическое исследование трепанобиоптата костного мозга в значительной части случаев позволяет сформулировать диагностическое заключение лишь в вероятностном ключе. За последние 20-25 лет критерии диагностики МПН существенно изменились. Так, в классической работе J. Thiele и соавт. (2003) при использовании критериев ВОЗ более 50% случаев эссенциальной тромбоцитемии, диагностированной по критериям PVSG, были реклассифицированы как ПМФ. Кроме того, на диагностику влияют погрешности преаналитического этапа: объем материала, декальцинация, фиксация препарата, микротомия, окрашивание и др. При микроскопическом исследовании правильная интерпретация большого количества субъективных и трудно различимых признаков, зависит от опыта и профессиональной компетенции врача-патологоанатома. Данные литературы свидетельствуют о недостаточной воспроизводимости результатов оценки морфологических изменений в трепанобиоптатах костного мозга.

Известно, что на фенотипические проявления первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии влияют стадия заболевания (клеточная и фиброзная стадия первичного миелофиброза), а также мутационный статус. При этом наличие и характер драйверных мутаций (*JAK2* или *CALR*) являются не только одним из критериев диагностики, но и имеют прогностическую значимость.

Оценка изменений мегакариоцитарного ростка — один из главных элементов морфологической дифференциальной диагностики первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии. При гистологическом исследовании врач-патологоанатом оценивает наличие, плотность и размер мегакариоцитарных кластеров (скопления тесно сомкнутых клеток характерны для первичного миелофиброза, а расположенные более разреженно, не соприкасающиеся друг с другом мегакариоциты — для эссенциальной тромбоцитемии), особенности строения ядер мегакариоцитов (гиполобулярные ядра при первичном миелофиброзе и гиперлобулярные — при эссенциальной тромбоцитемии), а также тропность мегакариоцитов к костным балкам и синусоидам, которая при первичном миелофиброзе выражена сильнее, чем при эссенциальной тромбоцитемии.

Автором (и его руководителем) в качестве предмета исследования выбрана сложная и актуальная тема — объективизация количественных и качественных аномалий строения костного мозга, прежде всего — мегакариоцитарного ростка, а также оценка их связи с клинико-лабораторной картиной первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии с мутациями в гене *JAK2* или *CALR*. Тема диссертационного исследования З.П. Асауленко имеет большое научно-практическое значение для здравоохранения: дифференциальная диагностика первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии крайне важна, поскольку ее итог — правильный диагноз — непосредственно связан с прогнозом течения заболевания и выбором тактики лечения пациента.

Научная новизна диссертационного исследования

На основании данных клинико-лабораторного, молекулярно-генетического, патоморфологического, иммуногистохимического и морфометрического исследования автором изучены *JAK2*- и *CALR*-позитивные случаи первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии. У включенных в исследование больных выполнена сравнительная оценка частоты морфологических симптомов, с использованием программных алгоритмов получены новые данные о качественных и количественных аномалиях мегакариоцитарного роста и их связи с нозологической формой, стадией заболевания и мутационным статусом. В частности, показано, что в дифференциальной диагностике первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии архитектурные особенности мегакариоцитарного роста имеют больший вес, чем цитологическая характеристика мегакариоцитов. На основе оценки мегакариоцитарного роста, маркированного антителами к CD42b, соискателем впервые сформулированы и предложены дополнительные дифференциальные критерии диагностики первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии.

Практическая значимость диссертационного исследования

В трепанобиоптатах костного мозга больных первичным миелофиброзом и эссенциальной тромбоцитемией автором определены наиболее значимые гистотопографические и морфологические аномалии мегакариоцитарного роста миелоидной ткани, позволяющие проводить патоморфологическую дифференциальную диагностику. Выявлена связь гистологических изменений в миелоидной ткани с типом драйверной мутации. Доказана ассоциация степени выраженности ретикулинового и коллагенового фиброза с количеством баллов международных прогностических шкал IPSS и DIPSS.

При иммуногистохимическом окрашивании мегакариоцитарного ростка установлены дифференциальные диагностические пороговые значения его характеристик.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научной печати

По теме диссертационного исследования опубликованы 2 печатные работы в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, а также получены 2 патента на изобретение. Основные положения диссертации были представлены на многочисленных конференциях, в том числе с международным участием.

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.

Постановка задач соответствует заявленной цели. Введение включает разделы «научная новизна», «практическая значимость» и «положения, выносимые на защиту».

Глава 1 содержит обзор литературных данных, в котором приведены краткая история вопроса, современное состояние проблемы классификации миелопролиферативных новообразований, молекулярный патогенез Ph-негативных миелопролиферативных новообразований, актуальные критерии ВОЗ диагностики эссенциальной тромбоцитемии и первичного

миелофиброза в префиброзной и фиброзной стадии. Охарактеризована связь драйверных мутаций в гене *JAK2* и *CALR* с клинико-лабораторной и патоморфологической картиной при первичном миелофиброзе и эссенциальной тромбоцитемии, описана значимость гистологического исследования костного мозга как большого диагностического критерия.

В главе 2 изложены материалы и методы исследования, описаны принципы формирования исследуемых групп пациентов, представлены критерии включения больных, подробно изложены методика гистологического, гистохимического и иммуногистохимического исследования, охарактеризованы принципы морфометрической оценки мегакариоцитов, а также гистотопографического анализа мегакариоцитарного ростка в трепанобиоптатах костного мозга, изложен принцип полуавтоматического выделения мегакариоцитов, маркированных антителами к CD42b с помощью программного обеспечения Ilastik.

Глава 3 представляет собой детальное изложение результатов проведенного исследования. Описаны клинико-лабораторные характеристики пациентов, включенных в исследование, выполнен анализ патоморфологических изменений миелоидной ткани в трепанобиоптатах костного мозга, подробно охарактеризованы гистотопографические аномалии мегакариоцитарного ростка, результаты морфометрического анализа CD42b-позитивных мегакариоцитов с учетом нозологической формы, стадии заболевания и мутационного статуса. Особого внимания заслуживают разработанные автором дифференциальные пороговые значения характеристик мегакариоцитарного ростка в костном мозге у больных первичным миелофиброзом и эссенциальной тромбоцитемией.

В главе 4 автор обобщает полученные результаты и сопоставляет их с данными литературы. «Обсуждение» демонстрирует понимание автором современного состояния проблемы дифференциальной диагностики миелопролиферативных новообразований. Подчеркивается значимость диагностических критериев ВОЗ, при этом показана вариабельность

клинико-лабораторных показателей и клинической картины в зависимости от мутационного статуса. Автором отмечена возросшая роль врача-патологоанатома в постановке диагноза первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии, несмотря на ограничения морфологического метода как достаточно субъективного и сильно зависящего от опыта врача.

Раздел «заключение» содержит краткое обсуждение полученных результатов. Выводы и практические рекомендации структурированы и логичны, соответствуют цели и задачам работы, следуют из полученных данных и отражают ключевые результаты диссертационного исследования. Сформулированы перспективы дальнейшей разработки темы.

Автореферат диссертации соответствует установленным требованиям и в полной мере отражает содержание диссертации.

Степень обоснованности и достоверность научных изложений, выводов и рекомендаций

Поставленные цели и сформулированные задачи диссертационной работы, выводы и практические рекомендации обоснованы фактическими материалами исследования, носят конкретный характер и не вызывают возражений. Результаты получены на материале достаточного объема с использованием актуальных методологических и методических принципов, использованы адекватные поставленным задачам статистические методы.

На защиту выносятся четыре положения:

В первом положении автор указывает на ассоциацию мутации в гене *JAK2* с более выраженным лейкоцитозом, эритроцитозом, повышенными показателями гемоглобина и большим числом случаев заболевания со спленомегалией, при этом мутации в гене *CALR* связаны с молодым возрастом и более высоким уровнем тромбоцитов в общем анализе крови. Это положение сформулировано на основе оценки клинико-лабораторной информации и подтверждается данными статистического анализа.

Во втором положении автор утверждает, что оценка количества мегакариоцитов, их расположения, числа и размеров мегакариоцитарных скоплений, строения ядер мегакариоцитов в совокупности с такими типовыми изменениями костного мозга как клеточность, лейко-эритробластическое соотношение, степень выраженности ретикулинового и коллагенового фиброза, остеосклероза позволяют дифференцировать случаи первичного миелофиброза и эссенциальной тромбоцитемии с подтвержденными мутациями в гене *JAK2* или *CALR*. Второе положение представляет собой результат морфометрического, гистотопографического и патоморфологического анализа изменений в миелоидной ткани трепанобиоптатов костного мозга у включенных в исследование больных и статистически обосновано.

В третьем положении автор доказывает ассоциацию *CALR*-позитивных случаев эссенциальной тромбоцитемии с более выраженной гиперплазией мегакариоцитарного ростка в костном мозге в сравнении со случаями с подтвержденной мутацией в гене *JAK2*. Результаты проведенного в диссертационном исследовании гистотопографического анализа демонстрируют сходство характеристик пространственного расположения мегакариоцитов и особенностей их строения у больных эссенциальной тромбоцитемией с мутацией в гене *CALR* и у пациентов с первичным миелофиброзом в префиброзной стадии. Положение подтверждается фактическими материалами работы, основанными на тщательном анализе гистологических препаратов костного мозга.

В четвертом положении автор показывает, что иммуногистохимические методы окрашивания мегакариоцитарного ростка в биопсиях костного мозга больных первичным миелофиброзом и эссенциальной тромбоцитемией могут быть использованы для морфологической дифференциальной диагностики этих болезней. Положение подтверждено результатами морфометрического и гистотопографического исследования, выполненного вручную, а также с

использованием программных алгоритмов, обосновано адекватным задаче статистическим анализом.

Замечаний и вопросов по диссертации нет. Работа выполнена на высоком методическом и профессиональном уровне. Существенных замечаний по содержанию и смыслу выполненного исследования, выбору методических подходов, обоснованности положений и выводов, практической и теоретической значимости не имеется. Значительная часть материала включена в состав таблиц и графиков, что облегчает восприятие полученных результатов, стремление автора избегать аббревиатур и сокращений делает текст более доступным для чтения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Асауленко Захара Павловича на тему: «Дифференциальная характеристика мегакариоцитарного ростка миелоидной ткани в биопсиях костного мозга при первичном миелофиброзе и эссенциальной тромбоцитемии с мутациями в гене *JAK2* или *CALR*», является научно-квалификационной работой, в которой приводится решение задач актуальных для патологической анатомии и гематологии — дифференциальный анализ патоморфологических аномалий мегакариоцитарного ростка в биоптатах костного мозга у больных первичным миелофиброзом в префиброзной и фиброзной стадии, а также эссенциальной тромбоцитемией с учетом их мутационного профиля, что имеет важное прикладное значение, а также представляет научный интерес, так как выполненные в диссертационном исследовании морфометрический и гистотопографический анализ цифровых копий трепанобиоптатов костного мозга могут быть использованы для разработки новых методов оценки гистологических препаратов с помощью машинного обучения.

Таким образом, по своей актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов, а также объему и уровню

проведенного исследования диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», от 24.09.2013 г., № 842 (с изменениями от 16.10.2024 г., № 1382), утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени, а её автор Асауленко Захар Павлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.3.2 Патологическая анатомия.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры патологической анатомии с патологоанатомическим отделением ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, протокол № 8 от 05 ноября 2025 года.

Заведующий кафедрой патологической анатомии с
патологоанатомическим отделением, руководитель
Научно-клинического центра патоморфологии
ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова
Минздрава России

доктор медицинских наук, доцент



В.В. Байков

197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8,
тел. 8(812)338-78-95, e-mail: info@lspbgmu.ru; <https://www.lspbgmu.ru/>

