

повышение сродства vWF к рецептору гликопротеина Ib-тромбоцитов, тип 2M – приводит к снижению афинности vWF к тромбоцитам или коллагену сосудов, тип 2N – наблюдается при снижении афинности vWF к фактору свертывания VIII.

Нарушения количества и качества vWF предопределяются генетически. Структуру vWF кодирует ген *VWF*, расположенный на хромосоме 12. Разные типы БВ имеют разные механизмы наследования: типы 2N и 3 наследуются аутосомно рецессивно, остальные типы – аутосомно доминантно, однако для типа 1 БВ характерна неполная пенетрантность, то есть симптомы болезни могут не проявиться в течении жизни, или развиться с возрастом. Нарушения в гене *VWF* распределены неравномерно как для разных типов БВ, так и для заболевания в целом. Например, нарушения, вызывающие тип 2B, локализованы в экзоне 28, в то время как нарушения, вызывающие типы 1 и 3 распределены по всему гену.

Молекулярно-генетические методы уже используются для конкретизации и верификации диагноза БВ за рубежом, однако представления о клинической картине, вызываемыми конкретными нарушениями остаются неполными. В данной диссертационной работе впервые изучена российская популяция пациентов с БВ или подозрением на БВ с целью определения генетических нарушений. Это позволяет соотнести полученные данные с мировым спектром известных мутаций.

В силу большого размера (52 экзона) анализ гена *VWF* методом Сэнгера затруднен, что требует создания алгоритма его исследования. Ген *VWF* может содержать неизвестные ранее мутации, нуждающиеся в доказательстве их патогенного эффекта. Молекулярно-генетический анализ является альтернативой некоторым коагулологическим исследованиям, не доступным в рутинной лабораторной практике.

Молекулярно-генетические методы позволяют диагностировать заболевание пренатально, определить риски при планировании семьи.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Впервые для российской выборки пациентов был проведен анализ гена *VWF* с целью установления спектра патогенных вариантов. В результате исследования было выявлено 37 разных вариантов гена *VWF*, 11 из которых являются новыми, ранее описанными, что существенно дополняет мировую генетическую базу болезней человека. Обнаружена микроделеция с.2435delC, составляющая 25% всех найденных нарушений в отечественной популяции, которая в ряде европейских популяций также часто встречается часто.

Проведен тщательный анализ корреляции генотипа с клиническими и лабораторными проявлениями БВ, что позволит улучшить диагностику.

Значимость для науки и практики

В диссертационной работе описан мутационный спектр российской выборки пациентов с БВ или подозрением на БВ. Выявлены новые варианты гена *VWF*, неизвестные ранее в мировой выборке, их возможный патогенный эффект оценен при помощи классификатора генных вариантов и коагулологических исследованиями.

Разработан и внедрен в практику алгоритм молекулярно-генетической диагностики БВ и ее типов. Приведены практические рекомендации по использованию молекулярно-генетических методов на разных этапах установления диагноза.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные результаты диссертационного исследования могут быть применены в практике врачей-гематологов, генетиков, специалистов

лабораторной диагностики. Результаты диссертационной работы могут послужить основанием для дальнейших исследований, посвященных молекулярно-генетической диагностике БВ.

Печатные работы

По теме диссертации опубликовано 11 работ: 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 1 статья в зарубежном журнале, индексирующемся в реферативных базах Scopus и Web of Science, 8 тезисов (4 на русском языке и 4 на английском).

Структура, содержание и оценка диссертационной работы

Диссертационная работа изложена на 111 страницах включает главы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации», «Список сокращений», «Приложения А-Г». Список литературы содержит 189 работ, из них 11 на русском языке и 178 на английском. Диссертационная работа содержит 20 таблиц и иллюстрирована 12 рисунками.

Во введении излагаются современные представления о классификации БВ, патогенезе и механизмах развития болезни. Обосновывается актуальность проблемы, научная и практическая новизна работы.

В обзоре литературы проведен анализ зарубежных и отечественных публикаций, посвященных классификации БВ, механизму ее развития, способам лечения и диагностики БВ. Отдельно рассмотрена роль молекулярно-генетических методов в диагностике БВ. Разделы обзора литературы соответствуют разделам результатов и обсуждения. Обзор литературы отражает современное состояние данной области науки.

В главе «Материалы и методы» представлен и иллюстрирован дизайн исследования, описаны критерии включения пациентов в исследование. Подробно приведены описания этапов лабораторной части исследования, что делает работу воспроизводимой.

В главе «Результаты и обсуждение» приведены результаты исследования и обсуждение в контексте мировых данных. В главе описывается полученный для российской выборки пациентов спектр мутаций, приводятся новые, не упоминавшиеся ранее в литературе, варианты гена *VWF*, обсуждается интерпретация их патогенности при помощи классификатора патогенности генных вариантов. Результатам по каждому типу БВ посвящается отдельная глава, подробно анализируется мутационная картина для каждого пациента. Приводятся результаты анализа родственников пациентов. Разработан алгоритм анализа экзонов гена *VWF*, описаны ограничения методов и зона их применимости. Для каждого пациента коагулогические данные соотнесены с результатами молекулярно-генетического исследования. В ходе работы выявлены случаи генной конверсии.

В заключении приводятся основные положения данной работы. Выводы, соответствуют целям и задачам диссертации, отражают ключевые результаты проведенного исследования.

Практические рекомендации позволяют оптимизировать диагностику БВ за счет возможности использования исследования ряда экзонов гена *VWF* при недоступности редких коагулогических методов.

Недостатки по содержанию и оформлению работы

Работа заслуживает положительной оценки. Отмечена высокая научно-практическая ценность диссертационной работы. Существенных замечаний по

поставленным в работе цели и задачам, выбору методических подходов и обоснованности выдвинутых автором положений и выводов нет. Полученные результаты могут служить основанием для дальнейших исследований.

Заключение

Диссертационная работа Чернецкой Дарьи Михайловны «Молекулярно-генетическая диагностика болезни Виллебранда», выполненная под руководством доктора медицинских наук Зозули Надежды Ивановны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной самостоятельно выполненной квалификационной научной работой, в которой решается актуальная для гематологии научно-практическая задача усовершенствования диагностики болезни Виллебранда с использованием молекулярно-генетических методов с учетом генотипических особенностей российской популяции пациентов.

Представленная работа Чернецкой Д.М. по своей актуальности, уровню и объему проведенных исследований, значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842 (с изменениями и дополнениями в редакции от 18 марта 2023 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови.

Отзыв обсужден и одобрен на совместной конференции института гематологии, иммунологии и клеточных технологий и кафедры гематологии и

клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России, протокол №11 от «21» ноября 2023 г.

Доктор медицинских наук, профессор,
заместитель директора института гематологии,
иммунологии и клеточных технологий,
профессор кафедры гематологии и клеточных
технологий ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им.
Дмитрия Рогачева» Минздрава России

Сметанина Наталия Сергеевна

Подпись Сметаниной Н.С. удостоверяю
Ученый секретарь, д.м.н., профессор



Спиридонова Е.А.

Сведения об организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: ул. Саморы Машела, д. 1, г. Москва, ГСП-7, 117997

Телефон: +7 495 287 65 70

Адрес сайта: <https://fnkc.ru>