

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Безнощенко Ольги Сергеевны «Особенности состояния системы гемостаза у пациентов с COVID-19 в период заболевания и реконвалесценции», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности

### 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Диссертационная работа Ольги Сергеевны Безнощенко посвящена исследованию изменений коагуляции у пациентов с COVID-19. Диагностика гиперкоагуляции у таких пациентов может помочь выявить пациентов с высоким риском развития тромбоэмболических осложнений и улучшить клинические исходы, используя персонализированные терапевтические подходы. Существенным достоинством работы является систематический подход к изучению параметров гемостаза у пациентов с COVID-19 как в процессе болезни, так и после их выздоровления. В представленном автором исследовании продемонстрировано преимущество интегральных методов анализа гемостаза, таких как тромбоэластометрия и тест генерации тромбина, над стандартными коагулологическими тестами при определении гиперкоагуляции. Это еще раз подтвердило известный факт, что стандартные времена свертывания, в силу условий постановки этих тестов (максимальная внешняя активация и избыток фосфолипидов), не способны чувствовать присутствовавшую в системе гиперкоагуляцию, но отвечают только на снижение концентрации факторов свертывания, например, при их усиленном потреблении. Использование различных вариантов теста ROTEM (EXTEM, INTEM, FIBTEM или NATEM) позволило не только объективно оценить процесс свертывания и лизиса сгустка у пациентов с COVID-19, принимающих, низкомолекулярный гепарин (поскольку в состав реагентов EXTEM и FIBTEM включен полибрин, который инактивирует гепарин, а параметры теста INTEM обладают чувствительностью только к нефракционированному гепарину), но также выявить участие всех форменных элементов крови (в первую очередь, тромбоцитов) в процессе свертывания, что важно для пациентов с тромбоцитопенией и анемией. Измерение фибринолиза (лизиса сгустка), которое обеспечивает тромбоэластометрия, позволяет оценить стабильность образовавшегося сгустка во времени, нарушения которой являются одной из причин тромбоэмболических осложнений при COVID-19.

В диссертационной работе продемонстрировано, что у пациентов с COVID-19 средней и тяжелой степени время образования сгустка (CFT EXTEM) меньше, чем у пациентов легкой степени, что указывает на повышенное образование у них тромбина и, соответственно, ускоренную полимеризацию фибрина, как в период заболевания, так и в период реконвалесценции. Это подтверждается данными теста генерации тромбина, где величины эндогенного тромбинового потенциала и максимальной концентрации тромбина в пробе были

выше в группе пациентов с тяжелым течением заболевания даже на фоне антикоагулянтной терапии. Кроме того, индекс тромботического потенциала (ТPI EXTEM) был больше у пациентов с COVID-19 тяжелой степени как во время заболевания, так и в периоде реконвалесценции. Таким образом, анализ тромбоэластометрии может классифицировать подгруппы пациентов с COVID-19 со значительным тромботическим риском и помочь в принятии клинических решений.

Анализ данных теста генерации тромбина показал, что очень важным является возможное наличие в пробе гепаринов, используемых для антикоагулянтной терапии. Чтобы сделать анализ немного более правильным, автор исключил из анализа те пробы, в которых с помощью теста на анти-Ха активность было определено достаточно высокое содержание гепарина. Однако, логичнее было бы избежать подобной ситуации, забирая пробу крови всегда на хвосте действия антикоагулянта (через 12 часов после введения).

Особенно интересна часть работы, посвященная эндотелиальным нарушениям, существующим у пациентов с COVID-19. В результате работы было показано, что такой параметр, как отношение активностей фактора фон Виллебранда и металлопротеиназы ADAMS-13 может быть использовано для определения тяжести заболевания и, соответственно, риска тромботических осложнений. Автор имеет патент на данный способ определения тяжести COVID-19.

Автореферат в полной мере отражает содержание и суть диссертации, включает все значимые результаты и информацию в соответствии с нормативными требованиями. Материал изложен структурировано, в современном научном стиле, хорошо иллюстрирован.

Тем не менее, к содержанию автореферата имеется ряд непринципиальных или дискуссионных замечаний.

1. **Таблица 1.** Не ясно, что за величина P приведена в таблице? Это различия между какими группами? Что такое абс (%)?

2. **Стр. 13.** *«У пациентов, перенёвших COVID-19 в средней и тяжелой степени, была выявлена высокая концентрация D-димера в периоде реконвалесценции, что является признаком активации коагуляции и дисфункции эндотелия».* Я думаю, что может быть и дополнительная причина: повышение D-димера в группе 3 выздоровевших пациентов можно объяснить тем, что при нормализации гемостаза в ходе выздоровления снижается уровень тромбина, а, следовательно, и активность тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза (ТАФИ). В результате ускоряется фибринолиз.

3. **Стр. 13.** *«У пациентов группы 3 максимальная плотность сгустка (MCFEXTEM) в обеих точках исследования превышала 68 мм, что свидетельствовало о гиперкоагуляции, активации тромбоцитов и повышенном риске развития тромбоза [Görlinger K., 2020]».* Почему, если референсный интервал для этого показателя 50-72 мм (см. таблицу 4).

4. **Стр. 14.** «Межгрупповой анализ параметров (AUC, Стах) теста генерации тромбина (ТГТ) у пациентов с COVID-19 разной степени тяжести не показал отличий ...» Однако, судя по ошибкам, приведенным на рисунке 5, различия между группами были достоверны.

5. **Стр. 15.** «Полученные данные свидетельствовали об отличии состояния системы гемостаза у пациентов одной, а именно средней степени тяжести, наблюдавшихся в разных условиях». Дело здесь не в различии гемостаза у этих подгрупп пациентов из-за разных условий наблюдения, а в наличии или отсутствии антикоагулянтной терапии.

6. **Стр. 17.** «Тромбинемия у пациентов с COVID-19 способствует увеличению плотности сгустка (MCFEXTEM, MCFEIVTEM) и препятствует его своевременному лизису, что в отдельных случаях вызывает остановку фибринолиза, повышая риск ТО [Blasi A., 2020; Nougier C., 2020]». Тем не менее, в данной работе у всех групп исследованных пациентов фибринолиз был в норме и даже демонстрировал тенденцию к активации в группах пациентов средней и высокой тяжести. Это надо было бы обсудить подробнее.

7. **Таблицы 8 и 9.** В примечаниях под таблицами написано: межгрупповое сравнение: \*\*\*- 2 и 3 групп, но этого в таблице нет. Кроме того, если приведены P для сравнения 1 и 2 групп (\*) и 1 и 3 групп (\*\*), какого-либо параметра, то величина P всегда одинакова. Так ли это?

8. **Рисунок 7.** Этот рисунок очень трудно воспринимается, т.к. боксики не расположены там, где приведены группы 1, 2 или 3. Они, естественно, сдвинуты. Не обозначено, что приведено на оси Y (в общем виде это отношение vWB/ADAMS-13). Кроме того, неудачен масштаб, т.к. на рисунке много места просто пустует, а изменения отношений в данном масштабе очень незначительны. Может быть лучше было бы привести обычные диаграммы для всех четырех отношений для трех групп?

9. **Вывод 5.** Я считаю, что в этом выводе много неточностей. Во-первых, как уже было сказано выше, различие полученных в двух подгруппах показателей в тесте генерации тромбина связано не со способом наблюдения, а с проводимой антикоагулянтной терапией, т.е. не говорит «об особенностях COVID-ассоциированной коагулопатии у пациентов с одинаковой, а именно средней степенью тяжести». Во-вторых, все показатели плазменного гемостаза у пациентов среднего уровня тяжести в двух подгруппах (см. Таблицу 6) кроме уровня антигена vWF в подгруппах А и Б и уровня фибриногена в подгруппе Б, находятся в пределах нормы, т.е. не показывают гиперкоагуляцию, но имеют тенденцию изменения в сторону гиперкоагуляции в группе Б относительно группы А.

10. Вызывает сожаление тот факт, что автор отказался от исследования коагуляции у пациентов с COVID-19, используя современный интегральный тест тромбодинамики. Аргументами для этого он приводит повышенное содержание у данных пациентов С реактивного белка и волчаночного антикоагулянта, которые должны снижать коагуляцию. Однако этот факт почему-то не учитывается им при проведении других тестов, которые были

использованы. Кроме того, интегральный тест должен учитывать все имеющиеся у пациента условия, чтобы точно отражать реальное состояние гемостаза в данный момент времени. Хочу заметить, что в литературе уже существует работа, демонстрирующая применимость и полезность этого теста при анализе коагуляции у пациентов с COVID-19 (Bulanov A.Y. et al. Integral assays of hemostasis in hospitalized patients with COVID-19 on admission and during heparin thromboprophylaxis. PLoS ONE 18(6): e0282939; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282939>).

Все приведенные замечания не меняют принципиально полученные результаты, а касаются только более строгого их описания.

Таким образом, представленный в автореферате материал позволяет сделать вывод, что диссертационная работа Безнощенко Ольги Сергеевны на тему «Особенности состояния системы гемостаза у пациентов с COVID-19 в период заболевания и реконвалесценции», полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а диссертант заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Заведующая лабораторией Биофизики  
ФГБУ Национальный медицинский  
исследовательский центр детской  
гематологии, онкологии и иммунологии  
им. Дмитрия Рогачева, д.б.н.

Е.И. Синауридзе

18.01.2024

Контактные данные:

тел.: +7 (916) 604-51-79, e-mail: [sinaurid@list.ru](mailto:sinaurid@list.ru)

Диссертация защищена по специальности «биохимия».

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

Подпись Е.И. Синауридзе заверяю.

Ученый секретарь ФГБУ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева,  
д.м.н. Спиридонова Е.А.

