

«УТВЕРЖДАЮ»

**Директор
ФГБНУ «НИИОПП»**

**д. м. н., профессор,
член-корреспондент РАН
Морозов С. Г.**



«23» марта 2020 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» о научно-практической значимости диссертации Будника Ивана Александровича «Механизмы нарушений гемостатического потенциала крови и пути его коррекции при геморрагических состояниях», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность темы исследования

Нарушения в системе гемостаза создают угрозу тяжелых геморрагических осложнений при травмах, хирургических и других инвазивных вмешательствах, родах. Летальность при острой массивной кровопотере достигает 40% без заметной тенденции к снижению за последние годы. Возможности экстренной коррекции гемостатического потенциала крови на сегодняшний день сводятся главным образом к переливанию компонентов крови и криопреципитата, что имеет невысокую эффективность и сопряжено с риском анафилаксии, передачи инфекций, циркуляторной перегрузки, острого повреждения легких и других осложнений. В связи с этим в настоящее время для купирования тяжелых кровотечений интенсивно разрабатываются методы целенаправленной гемостатической терапии, основанные на применении фармацевтических гемостатиков системного действия – антифибринолитиков и концентратов факторов свертывания. Несмотря

на ряд преимуществ перед компонентной гемостатической терапией, достичь с их помощью желаемого результата удастся тоже далеко не всегда. Последнее во многом объясняется недостаточной изученностью влияния гемостатических препаратов и их взаимодействия между собой при различных формах патологии системы гемостаза. Кроме того, многие вопросы патогенеза и оценки степени расстройств гемостатического потенциала крови при геморрагических состояниях также остаются открытыми. В связи с этим диссертационное исследование И.А. Будника, в котором он исследовал механизмы нарушений в системе гемостаза при состояниях повышенного геморрагического риска, включая травматическую и гемодилюционную коагулопатию, гиперфибринолиз, количественные и качественные дефекты тромбоцитарного звена системы гемостаза, и обосновал новые подходы к оценке и коррекции гемостатического потенциала с помощью гемостатиков системного действия, является актуальным и своевременным.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Автором впервые установлен относительный вклад гиперфибринолиза, гипотермии и ацидоза в нарушение гемостатического потенциала крови при гемодилюции и показано, что его коррекция в условиях одновременного воздействия всех указанных патогенетических факторов обеспечивается путем комбинированного применения гемостатических препаратов даже в субэффективных концентрациях. Кроме того, в работе сформулированы принципы коррекции гемостатического потенциала крови в зависимости от степени гемодилюции, выраженности и механизмов индукции фибринолитической активности, степени снижения содержания тромбоцитов в крови и нарушения их функциональной активности.

И. А. Будником разработана оригинальная модель изолированной тромбоцитопении *in vitro*, с помощью которой определены критерии оценки адгезивной и агрегационной функции тромбоцитов, а также формирования кровяного сгустка в условиях тромбоцитопении различной тяжести.

Автором впервые выявлены и описаны три категории пациентов с тромбастенией Гланцмана, отличающиеся по степени коррекции генерации тромбина с помощью концентрата рекомбинантного активированного фактора VII в условиях *ex vivo*. Разработана модель тромбастении Гланцмана *in vitro*, с помощью которой установлено, что коррекция формирования кровяного сгустка при этой форме патологии достигается путем стимуляции тромбоцитов через рецепторы, сопряженные с гетеротримерным G-белком, в частности через рецепторы тромбина (PAR-1 и PAR-4), АДФ (P2Y₁ и P2Y₁₂) и тромбоксана A₂ (TP).

В работе выявлены закономерности формирования комплекса «фибриноген–интегрин α IIb β 3–цитоскелет» в динамике агрегации тромбоцитов, при этом показана роль сигнализации от рецепторов, сопряженных с гетеротримерным G-белком, активации интегринов α IIb β 3 «изнутри наружу», сигнализации от интегринов α IIb β 3 «снаружи внутрь» и полимеризации β -актина. Показано, что механизм угнетения функций тромбоцитов при использовании ацетилсалициловой кислоты и антагонистов рецепторов P2Y₁ и P2Y₁₂ включает нарушение формирования указанного комплекса.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты настоящей работы расширяют представления о роли гемодилюции, гиперфибринолиза, гипотермии и ацидоза в нарушении гемостатического потенциала крови при травматической коагулопатии. Автором также показано, что возможность коррекции гемостатического потенциала крови с помощью антифибринолитиков и концентратов факторов свертывания во многом зависит от определенного сочетания действующих патогенетических факторов коагулопатии (степень гемодилюции, механизм индукции гиперфибринолиза, содержание и функциональная активность тромбоцитов и т. д.), что обосновывает необходимость анализа и учета механизмов снижения гемостатического потенциала крови у пациента при назначении ему гемостатической терапии.

Разработанный автором подход к оценке адгезивной и агрегационной функции тромбоцитов и их участия в формировании кровяного сгустка может быть

использован для выявления дисфункции тромбоцитов у пациентов с тромбоцитопенией различного генеза и более точной оценки степени геморрагического риска.

Обнаружение различных категорий пациентов с тромбоастенией Гланцмана, отличающихся по степени коррекции генерации тромбина с помощью концентрата рекомбинантного активированного фактора VII в условиях *ex vivo*, объясняет значительную межиндивидуальную вариабельность его гемостатической эффективности. Используемый в работе метод оценки возможности коррекции генерации тромбина при тромбоастении Гланцмана может быть применен в клинической практике для определения чувствительности пациента к указанному препарату и персонализированного подбора его дозы.

Установленная в модели тромбоастении Гланцмана возможность коррекции формирования кровяного сгустка путем стимуляции тромбоцитов через рецепторы, сопряженные с гетеротримерным G-белком, уточняет представления о роли этих рецепторов в регуляции прокоагулянтной функции тромбоцитов и открывает новое патогенетически обоснованное направление гемостатической терапии при этой форме патологии.

Полученные автором данные о закономерностях формирования комплекса «фибриноген–интегрин $\alpha IIb\beta 3$ –цитоскелет» в динамике агрегации тромбоцитов и влиянии на этот процесс ацетилсалициловой кислоты и антагонистов рецепторов $P2Y_1$ и $P2Y_{12}$, могут быть использованы для разработки нового метода оценки остаточной реактивности тромбоцитов на фоне антитромбоцитарной терапии.

Личный вклад автора

И. А. Буднику принадлежит ведущая роль в выборе научного направления, постановке цели и задач, выборе методов исследования. Автор самостоятельно разработал план исследований, выполнил все описанные в диссертации эксперименты, статистическую обработку, анализ и обобщение полученных результатов, сформулировал выводы и практические рекомендации. Автор лично представлял результаты диссертационного исследования на различных научных меро-

приятиях, в том числе в виде устных выступлений, и внес определяющий вклад в оформление полученных результатов в виде статей, опубликованных в рецензируемых научных изданиях. Вклад ученых, оказавших содействие в выполнении исследований, отражен в публикациях по теме диссертации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты диссертационного исследования И. А. Будника внедрены в учебный процесс кафедры патофизиологии и кафедры патологии человека Института клинической медицины и кафедры патологии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в учебный процесс и научную работу кафедры патологической физиологии им. акад. А.А. Богомольца и научную работу Центра коллективного пользования НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России.

Разработанные автором диссертации экспериментальные модели состояний высокого геморрагического риска (модель травматической коагулопатии, изолированной тяжелой тромбоцитопении, тромбастении Гланцмана) могут применяться для доклинической оценки эффективности новых подходов к коррекции гемостатического потенциала крови при соответствующих формах патологии.

Результаты диссертационного исследования и сформулированные на их основе научные положения и практические рекомендации по коррекции гемостатического потенциала крови при вышеуказанных состояниях высокого геморрагического риска могут также служить экспериментальным обоснованием для планирования и проведения соответствующих клинических исследований.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликованы 62 печатные работы, в т. ч. 16 статей (15 оригинальных статей и 1 обзор литературы), из которых 4 опубликованы в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, утвержденный

Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, и 12 — в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus и/или Web of Science и считающихся входящими в указанный перечень (в соответствии с письмом Министерства образования и науки Российской Федерации № 13-6518 от 01.12.2015). Результаты диссертации доложены и обсуждены на множестве международных и всероссийских научных конгрессах и конференциях.

Оценка содержания диссертации и ее завершенности

Диссертация И. А. Будника изложена на 325 страницах, содержит 8 таблиц и 55 рисунков, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, четырех глав с результатами собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 54 источника на русском и 344 — на английском языках.

Высокая достоверность полученных автором результатов, обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, обеспечены тщательным отбором и достаточным объемом экспериментального материала, наличием всех необходимых контрольных групп, использованием современных и общепринятых методов исследования системы гемостаза, включая тест генерации тромбина, световую трансмиссионную агрегометрию и др., и ряда биохимических методов исследования, корректным статистическим анализом полученных результатов. Выводы и практические рекомендации, представленные в работе, четко сформулированы, полностью отражают решение поставленных автором задач.

В целом диссертационная работа И. А. Будника представляет собой тщательно спланированное научное исследование, выполненное на высоком научно-методическом уровне и имеющее большое теоретическое и практическое значение для патологической физиологии. Представленные материалы свидетельствуют о полной завершенности рассматриваемого диссертационного исследования.

Автореферат изложен на 45 страницах, полностью соответствует содержанию диссертации.

Содержание и научные положения диссертационной работы И. А. Будника соответствует формуле специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Замечания

В работе встречаются отдельные стилистические погрешности, которые не носят принципиального характера и не оказывают значимого влияния на общее положительное впечатление от диссертационного исследования.

Заключение

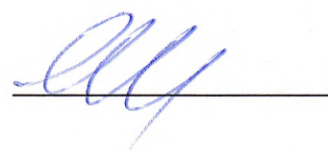
Диссертационная работа Будника Ивана Александровича на тему «Механизмы нарушений гемостатического потенциала крови и пути его коррекции при геморрагических состояниях» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научная проблема, имеющая большое значение для патологической физиологии как фундаментальной и прикладной медицинской науки, — выявлены ранее неизвестные закономерности нарушения гемостатического потенциала крови при геморрагических состояниях, разработаны и патогенетически обоснованы новые эффективные подходы к его оценке и коррекции с помощью современных фармакологических гемостатических средств.

По актуальности темы, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов, обоснованности выводов представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ № 1168 от 01.10.2018 в редакции от 31.08.2019), а ее автор, Будник Иван Александрович,

заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Диссертация и отзыв обсуждены на межлабораторной конференции лабораторий физико-химической и экологической патофизиологии, общей и перинатальной нейроиммунопатологии, хронического воспаления и микроциркуляции, общей патологии нервной системы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», протокол № 1 от «04» марта 2020 года.

И.о. заведующего лабораторией
физико-химической и экологической
патофизиологии ФГБНУ «НИИОПП»
доктор биологических наук
(14.03.03 (14.00.16) – патологическая физиология),
профессор
Карганов Михаил Юрьевич



Подпись профессора М. Ю. Карганова заверяю,
Ученый секретарь ФГБНУ «НИИОПП»
кандидат медицинских наук
Скуратовская Лариса Николаевна



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (ФГБНУ «НИИОПП»); 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8; тел. +7 (499) 151-17-56; e-mail: niiopp@mail.ru, сайт: <http://niiopp.ru/>.