

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации, профессора кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России Петрищева Николая Николаевича на диссертацию Будника Ивана Александровича «Механизмы нарушений гемостатического потенциала крови и пути его коррекции при геморрагических состояниях» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

### **Актуальность темы исследования**

Диссертация И. А. Будника посвящена изучению механизмов нарушения гемостатического потенциала крови при геморрагических состояниях и патогенетическому обоснованию новых подходов к его экстренной коррекции. Актуальность темы исследования обусловлена тем, что нарушения гемостатического потенциала крови являются одной из главных причин тяжелых, трудноконтролируемых кровотечений, приводящих к массивной кровопотере и нередко смерти пациента. Ежегодно от больших коагулопатических кровотечений, возникших в результате травм, обширных хирургических вмешательств, патологических родов и других состояний в мире погибают около 2 млн человек.

Возникновение больших кровотечений требует незамедлительной коррекции гемостатического потенциала крови, что на сегодняшний день представляет большую сложность. Как правило, с этой целью проводится переливание компонентов аллогенной крови в фиксированном соотношении доз. При этом, далеко не всегда удается повысить концентрацию факторов свертывания в плазме пациента до необходимого уровня и достичь остановки кровотечения. В настоящее время активно разрабатываются алгоритмы целенаправленной гемостатической терапии, основанные на применении

концентратов факторов свертывания и антифибринолитиков. Однако, эффективность системных гемостатиков, особенно при их комбинированном применении, при геморрагических состояниях различного генеза изучена недостаточно. В связи с вышеизложенным, диссертация И.А Будника, в которой на различных экспериментальных моделях состояний высокого геморрагического риска, обосновываются новые подходы к коррекции гемостатического потенциала крови с помощью гемостатических препаратов является актуальным и своевременным исследованием, имеющим большую практическую значимость.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научные положения, выносимые автором на защиту, четко сформулированы, полностью обоснованы представленными в диссертации результатами, отражают наиболее значимые закономерности, установленные в ходе выполнения экспериментальных исследований. Автором были использованы современные методы исследования, адекватные цели и задачам исследования, описанные в работе эксперименты поставлены методологически грамотно, а полученные результаты проанализированы с применением различных методов статистического анализа, соответствующих дизайну конкретного эксперимента. Выводы и практические рекомендации тщательно аргументированы и логично следуют из полученных автором результатов.

### **Достоверность и научная новизна исследования, полученных результатов**

Достоверность полученных автором результатов не вызывает сомнений, поскольку работа выполнена на большом экспериментальном материале с

использованием таких современных методов исследования системы гемостаза как тромбоэластометрия, тест генерации тромбина, агрегометрия, оценка адгезии и агрегации тромбоцитов при высокой скорости сдвига, а также ряда биохимических методик. Следует отметить четкое планирование и грамотный дизайн выполненных экспериментов, тщательное описание и анализ полученных результатов.

Научная новизна диссертационного исследования И. А. Будника заключается в том, что в нем впервые установлен вклад ключевых патогенетических факторов травматической коагулопатии (гемодилуции, гиперфибринолиза, гипотермии и ацидоза) в нарушение гемостатического потенциала крови и показано, что его коррекция в модели указанной патологии достигается комбинированным применением гемостатических препаратов в субэффективных концентрациях. Автором также сформулированы новые подходы к выбору гемостатической терапии, учитывающие наличие гемодилуции, механизмы и выраженность гиперфибринолиза, содержание тромбоцитов в крови и их функциональное состояние. Кроме того, автором разработана оригинальная модель изолированной тромбоцитопении *in vitro*, используя которую он установил критерии оценки адгезивной и агрегационной функции тромбоцитов в зависимости от их содержания в крови и применил их у пациентов с первичной иммунной тромбоцитопенией. И. А. Будником впервые описаны три категории пациентов с тромбастенией Гланцмана, отличающиеся по степени коррекции генерации тромбина при использовании концентрата рекомбинантного активированного фактора VII *ex vivo*. Автором была также разработана модель тромбастении Гланцмана *in vitro*, с помощью которой им был экспериментально обоснован принципиально новый подход к коррекции формирования кровяного сгустка при этой патологии, заключающийся в стимуляции прокоагулянтной активности тромбоцитов через рецепторы, сопряженные с G-белком. И. А. Будником впервые описаны механизмы формирования в агрегирующих тромбоцитах комплекса

«фибриноген–интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ –цитоскелет» и показано, что механизм угнетения функций тромбоцитов при использовании ацетилсалициловой кислоты и антагонистов рецепторов  $\text{P2Y}_1$  и  $\text{P2Y}_{12}$  включает нарушение формирования указанного комплекса.

### **Значимость для науки и практики полученных результатов**

В своей работе И.А. Будник, используя модель травматической коагулопатии *in vitro*, установил, что коррекция гемостатического потенциала крови достигается путем комбинированного применения гемостатических препаратов даже в субэффективных концентрациях, что имеет большое значение для клинической практики, поскольку снижение дозы гемостатических препаратов обеспечит снижение риска тромботических осложнений без ущерба эффективности проводимой гемостатической терапии. Автором также показано, что эффективность применения гемостатических средств зависит от определенного сочетания патогенетических факторов развития коагулопатии, что обосновывает необходимость анализа и учета механизмов снижения гемостатического потенциала крови у пациента при назначении ему гемостатической терапии.

Разработанный диссертантом подход к оценке адгезии и агрегации тромбоцитов и их участия в формировании кровяного сгустка, может быть применен в клинических условиях у пациентов с тромбоцитопенией различной тяжести и генеза для прогнозирования риска геморрагических осложнений. Это имеет большое значение для клинической практики, так как в настоящее время возможности изучения указанных функций тромбоцитов при их низком содержании в образце очень ограничены.

Несомненную теоретическую и практическую значимость имеют полученные И. А. Будником данные о том, что при тромбастении Гланцмана по критерию степени коррекции генерации тромбина с помощью концентрата рекомбинантного активированного фактора VII *ex vivo* пациенты

могут быть подразделены на три группы: с «сильным», «средним» и «слабым» ответом. Это объясняет существенные различия в гемостатической эффективности указанного препарата у разных пациентов с тромбастенией Гланцмана, и свидетельствуют о необходимости проводить предварительную оценку чувствительности к нему при назначении терапии. Установленная диссертантом возможность коррекции гемостатического потенциала крови при тромбастении Гланцмана путем стимуляции тромбоцитов через рецепторы, сопряженные с G-белком, открывает новое патогенетически обоснованное направление в гемостатической терапии при указанной патологии.

Полученные И. А. Будником знания о механизмах формирования в агрегирующих тромбоцитах комплекса «фибриноген–интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ –цитоскелет» в динамике агрегации тромбоцитов и влиянии на этот процесс ингибиторов функций тромбоцитов может стать основой для разработки нового метода подхода к оценке остаточной реактивности тромбоцитов на фоне проводимой анти-тромбоцитарной терапии.

### **Оценка структуры и содержания диссертации**

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 325 страницах и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной описанию материалов и методов исследования, четырех глав с описанием результатов собственных исследований и заключения. Завершают текст выводы, практические рекомендации и список литературных источников. Работа проиллюстрирована 55 рисунками и 8 таблицами. Иллюстративный материал значительно дополняет и облегчает восприятие описанных результатов.

В разделе «Введение» автор обосновывает актуальность и степень разработанности темы исследования, четко формулирует цель и ставит задачи исследования, описывает его методологию, четко формулирует

положения, выносимые на защиту, теоретическую и практическую значимость полученных результатов.

Глава 1 (обзор литературы) содержит исчерпывающие сведения об изучаемой проблеме. Автор на высоком научном уровне излагает современное понимание молекулярно-клеточных механизмов нарушения гемостатического потенциала крови при травматической коагулопатии, первичной иммунной тромбоцитопении, тромбастении Гланцмана и приеме антитромбоцитарных препаратов, освещает существующие на данный момент подходы к экстренной гемостатической терапии и возникающие при этом сложности и нерешенные задачи, обосновывая тем самым необходимость выполненного им исследования.

Глава 2 содержит описание донорских материалов от здоровых добровольцев, пациентов с тромбастенией Гланцмана и первичной иммунной тромбоцитопенией. Также приведены критерии исключения из исследования, что увеличивает качество исследуемых материалов. Дается достаточно подробное описание использованных в работе методов исследования системы гемостаза – ротационная тромбоэластометрия, тест генерации тромбина, тест оценки адгезии и агрегации тромбоцитов в условиях имитированного кровотока, световая трансмиссионная агрегометрия, исследования связи интегринов  $\alpha IIb\beta 3$  с фибриногеном и цитоскелетом тромбоцитов. Далее следует описание конкретных моделей коагулопатии, тромбоцитопатии и тромбоцитопении, использованных в исследовании. Описаны и гемостатические препараты, примененные автором для экспериментальной коррекции нарушений в системе гемостаза. Всего было использовано восемь препаратов с гемостатической активностью в различных комбинациях.

В главах 3–6 изложены результаты собственных исследований. В главе 3 автор исследует вклад гемодилуции, гиперфибринолиза, гипотермии и ацидоза в нарушение гемостатического потенциала крови как ключевых патогенетических факторов развития травматической коагулопатии, а также

возможности коррекции обнаруженных нарушений. При этом автор показывает, что существенная коррекция формирования кровяного сгустка достигается комбинированным использованием гемостатиков в небольших (субэффективных) концентрациях, а также то, что эффективность применения гемостатиков существенно зависит от конкретного сочетания и выраженности вышеуказанных патогенетических факторов. В главе 4 автор разрабатывает способ оценки адгезивной и агрегационной функции тромбоцитов и их участия в формировании кровяного сгустка в условиях тромбоцитопении и с его помощью дает оценку названных функций тромбоцитов у пациентов первичной иммунной тромбоцитопенией. Автор исследует возможности коррекции нарушений гемостатического потенциала крови при тяжелой тромбоцитопении с помощью различных гемостатических препаратов, еще не используемых при этой патологии. В главе 5 автор изучает нарушения и возможности коррекции гемостатического потенциала крови при тромбастении Гланцмана. Часть экспериментов выполнена *ex vivo* с использованием крови, полученной от пациентов, а часть – с использованием разработанной им экспериментальной модели тромбастении Гланцмана *in vitro*. Важным результатом исследования является выявление различных категорий пациентов с указанной патологией, отличающихся чувствительностью к рекомбинантному активированному фактору VII по критерию степени коррекции генерации тромбина. В этой же главе автор обосновывает принципиально новый подход к коррекции гемостатического потенциала крови при тромбастении Гланцмана, основанный на стимуляции прокоагулянтной активности тромбоцитов через рецепторы, сопряженные с G-белком. Глава 6 посвящена исследованию механизмов формирования в тромбоцитах комплекса «фибриноген–интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ –цитоскелет» в динамике их агрегации и влияния на этот процесс антитромбоцитарных препаратов.

В разделе «Заключение» автор анализирует полученные им результаты, сопоставляет их с результатами других авторов, формулирует установленные

им закономерности нарушений гемостатического потенциала и возможности его коррекции при вышеуказанных состояниях высокого геморрагического риска.

Автореферат диссертации полностью соответствует ее содержанию.

Результаты диссертационного исследования отражены в 16 статьях, из которых 12 опубликованы в журналах, индексируемых в международных реферативных базах данных *Scopus* и/или *Web of Science*, и 4 — в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, утвержденный ВАК при Минобрнауки России. Результаты, полученные при выполнении исследования были также обсуждены на множестве международных и всероссийских конференций.

Замечаний по содержанию и оформлению работы нет. В порядке обсуждения хотелось бы получить ответ на следующий вопрос:

каков вклад дисфункции эндотелия в нарушения гемостатического потенциала крови при геморрагических состояниях?

### **Заключение**

Диссертационная работа Будника Ивана Александровича «Механизмы нарушений гемостатического потенциала крови и пути его коррекции при геморрагических состояниях» на соискание ученой степени доктора медицинских наук является завершенной научно-квалификационной работой, содержащей решение важной научной проблемы в области патофизиологии — установлены ранее неизвестные механизмы нарушения гемостатического потенциала при геморрагических состояниях различного генеза и разработаны новые патогенетические обоснованные подходы к его коррекции. Совокупность разработанных автором теоретических положений можно квалифицировать как научное достижение в развитии соответствующего направления патологической физиологии. Диссертация И.А. Будника соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении

ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (с изменениями, утвержденными постановлением Правительства Российской Федерации № 1168 от 01.10.2018 в редакции от 31.08.2019), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Профессор кафедры патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России  
д.м.н., профессор



Н.Н. Петрищев

Адрес: 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8  
Тел.: 8 (812) 338-68-95, E-mail: info@1spbgtmu.ru



Подпись руки за

Вед. документовед: А.А.Янькова

18» 03 2020