

## **Заключение**

**диссертационного совета ДСУ 208.001.08 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук.**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 20 октября 2020 года № 11

О присуждении Буднику Ивану Александровичу, гражданину России, ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация «Механизмы нарушений гемостатического потенциала крови и пути его коррекции при геморрагических состояниях» в виде рукописи по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология принята к защите 25 июня 2020 г., протокол № 2, диссертационным советом ДСУ 208.001.08 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8, строение 2 (Приказ ректора Университета № 0465/Р от 28.05.2020 г.).

Будник Иван Александрович, 1983 года рождения, в 2006 году окончил государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Саратов, по специальности «лечебное дело».

Соискатель Будник Иван Александрович диссертацию на соискание ученой степени кандидата наук «Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на адгезию и агрегацию тромбоцитов при различных скоростных

параметрах движения крови и при изменении рН» защитил в 2007 году в диссертационном совете при Саратовском государственном медицинском университете.

Будник Иван Александрович с 2013 года работает доцентом кафедры патофизиологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по настоящее время.

Диссертация «Механизмы нарушений гемостатического потенциала крови и пути его коррекции при геморрагических состояниях» по специальности: 14.03.03 – Патологическая физиология выполнена на кафедре патофизиологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

#### **Научные консультант:**

– доктор медицинских наук, доцент, Морозова Ольга Леонидовна, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедра патофизиологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, профессор кафедры.

#### **Официальные оппоненты:**

- Уразова Ольга Ивановна, гражданка России, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра патофизиологии, заведующий кафедрой.

- Петрищев Николай Николаевич, гражданин России, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени

академика И.П. Павлова» Минздрава России, кафедра патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, профессор кафедры.

- Долгих Владимир Терентьевич, гражданин России, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии», кафедра общей патологии Института высшего и дополнительного профессионального образования, заведующий кафедрой. – дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» в своем положительном заключении, составленном доктором биологических наук, профессором Каргановым Михаилом Юрьевичем – и.о. заведующего лабораторией физико-химической и экологической патофизиологии, главным научным сотрудником указала, что, 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 г. (с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ № 1168 от 01.10.2018 г. в редакции от 31.08.2019 г.), а ее автор, Будник Иван Александрович, заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03 - патологическая физиология.

Соискатель имеет 81 научную работу, из них 62 работы по теме диссертации общим объемом 8,16 печатных листа, в том числе 4 статьи в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, утвержденный Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 12 статей в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus, 24 работы в материалах конференций, 14 работ в материалах конгрессов, 4 работы в материалах симпозиумов, 4 работы в материалах съездов.

#### **Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. Correction of coagulopathy in thrombocytopenia and Glanzmann thrombasthenia models by fibrinogen and factor XIII as assessed by thromboelastometry / **I. Budnik**, B. Shenkman, O. Morozova, J. Andreichyn, Y. Einav // **Pathophysiology**. — 2018. — Vol. 25, № 4. — P. 347–351. — DOI: 10.1016/j.pathophys.2018.05.005.
2. Role of heterotrimeric G proteins in platelet activation and clot formation in platelets treated with integrin  $\alpha IIb\beta 3$  inhibitor / **I. Budnik**, B. Shenkman, H. Hauschner, U. Martinowitz, N. Savion // **Platelets**. — 2018. — Vol. 29, № 3. — P. 265–269. — DOI: 10.1080/09537104.2017.1295136.
3. Анализ влияния транексамовой кислоты, фактора XIII и концентрата фибриногена на формирование и лизис кровяного сгустка при избыточном фибринолизе, индуцированном тканевым и урокиназным активатором плазминогена / **И. А. Будник**, О. Л. Морозова,

А. А. Цымбал, Б. Шенкман, Ю. Эйनाव // **Гематология и трансфузиология.** — 2018. — Т. 63, № 1. — С. 55–64. — DOI: 10.25837/NAT.2018.86..1..005.

На автореферат диссертации поступили отзывы от: доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Курск – Бобынцева Игоря Ивановича; доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой общей и клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар – Каде Азамата Халидовича; доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, г. Воронеж – Болотских Владимира Ивановича; доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки УР, заведующей кафедрой патологической физиологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Ижевск – Брындиной Ирины Георгиевны; доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России, г. Москва – Малышева Игоря Юрьевича.

Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что оппоненты являются специалистами в данной области и имеют публикации по теме диссертации в рецензируемых журналах.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», г. Москва, выбран в качестве ведущей организации в связи

с тем, что одно из научных направлений, разрабатываемых данным учреждением, соответствует профилю представленной диссертации.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

Установлен существенный вклад гемодилуции, гиперфибринолиза, гипотермии и ацидоза – ключевых патогенетических факторов травматической коагулопатии – в их взаимосвязи в патогенез нарушений гемостатического потенциала крови и доказано, что эффективная коррекция указанных нарушений обеспечивается путем комбинированного применения гемостатических препаратов в субэффективных концентрациях.

Сформулированы принципы коррекции гемостатического потенциала крови в зависимости от степени гемодилуции, уровня и механизмов индукции фибринолитической активности, степени снижения содержания тромбоцитов в крови и нарушения их функциональной активности, а также выявлены наиболее эффективные комбинации гемостатических препаратов, позволяющие достигать максимального результата в зависимости от конкретного сочетания вышеуказанных патогенетических факторов.

Разработана оригинальная модель изолированной тромбоцитопении *in vitro*, с использованием которой определены критерии оценки адгезивной и агрегационной функции тромбоцитов и их участия в формировании кровяного сгустка в зависимости от тяжести тромбоцитопении. С помощью этих критериев проведена оценка указанных функций тромбоцитов у пациентов с первичной иммунной тромбоцитопенией.

Выделены и описаны три категории пациентов с тромбастенией Гланцмана по критерию достигаемой коррекции процесса генерации тромбина с помощью концентрата рекомбинантного активированного фактора VII в условиях *ex vivo*.

Разработана оригинальная модель тромбастении Гланцмана *in vitro*, с использованием которой получены фактические данные, позволившие сформулировать новые подходы к эффективной коррекции процесса формирования

кровяного сгустка, основанные на применении ранее не исследованных при этой форме патологии концентратов факторов свертывания. Установлена также возможность потенцирования прокоагулянтной активности тромбоцитов путем их стимуляции через рецепторы, сопряженные с гетеротримерным G-белком, в частности, через рецепторы тромбина (PAR-1 и PAR-4), АДФ (P2Y<sub>1</sub> и P2Y<sub>12</sub>) и тромбоксана A<sub>2</sub> (TP).

Выявлены и описаны закономерности формирования комплекса «фибриноген–интегрин αIIbβ3–цитоскелет» в динамике агрегации тромбоцитов. Доказано, что механизм угнетения функций тромбоцитов под влиянием ацетилсалициловой кислоты и антагонистов рецепторов P2Y<sub>1</sub> и P2Y<sub>12</sub> включает нарушение формирования указанного комплекса.

**Теоретическая значимость исследования** обоснована тем, что:

Расширены и обоснованы научные представления о роли гемодилуции, гиперфибринолиза, гипотермии и ацидоза в нарушении формирования кровяного сгустка и его фибринолитической устойчивости, а также в развитии дисфункции тромбоцитов при травматической коагулопатии.

Установлено, что у пациентов с первичной иммунной тромбоцитопенией снижение эффективности тромбоцитарного звена системы гемостаза отмечается при сохранении нормальной адгезивной, агрегационной, прокоагулянтной и контрактильной активности тромбоцитов как таковой, а следовательно, причины различной кровоточивости у пациентов с одинаковой тяжестью тромбоцитопении следует искать в иных аспектах функционирования тромбоцитов или в других звеньях системы гемостаза.

Определен вклад сигнализации от рецепторов растворимых тромбоцитарных агонистов, сопряженных с гетеротримерными G-белками Gαq, Gαi и/или Gα12/13, и сигнализации «снаружи внутрь» от интегринов αIIbβ3 в регуляции прокоагулянтной функции тромбоцитов.

Доказана возможность коррекции характерного для тромбастении Гланцмана дефицита прокоагулянтной функции тромбоцитов и их участия в формировании кровяного сгустка путем стимуляции тромбоцитов через

рецепторы, сопряженные с гетеротримерным G-белком, что открывает принципиально новое патогенетически обоснованное направление гемостатической терапии при этой форме патологии.

Получены новые данные, ставшие основой для развития фундаментальных представлений о процессе формирования комплекса «фибриноген–интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ –цитоскелет» в динамике агрегации тромбоцитов: раскрыт относительный вклад сигнализации от рецепторов растворимых тромбоцитарных агонистов, сопряженных с гетеротримерным G-белком, полимеризации актина, связывания фибриногена и сигнализации «снаружи внутрь» от интегринов  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  в этот процесс.

Охарактеризованы закономерности влияния ацетилсалициловой кислоты и антагонистов рецепторов  $\text{P2Y}_1$  и  $\text{P2Y}_{12}$  на формирование комплекса «фибриноген–интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ –цитоскелет», что расширяет представления о молекулярно-клеточных механизмах угнетения функциональной активности тромбоцитов и снижения гемостатического потенциала крови при использовании средств для двойной антитромбоцитарной терапии.

**Значение полученных соискателем результатов для практики** подтверждается тем, что:

Результаты 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.

С использованием модели травматической коагулопатии *in vitro* доказано, что эффективность гемостатических средств при этой форме патологии зависит не только от наличия гемодилуции и гиперфибринолиза, но и от вида активатора плазминогена, вызвавшего его развитие: в условиях

гиперфибринолиза, индуцированного тканевым активатором плазминогена, применение концентрата фибриногена повышает гемостатический потенциал крови, тогда как в условиях гиперфибринолиза, индуцированного урокиназным активатором плазминогена, – наоборот, потенцирует его снижение. Установлено взаимодействие между концентратом фибриногена и транексамовой кислотой, выражающееся в ослаблении ее антифибринолитического действия по мере повышения уровня фибриногена в плазме. Эти данные должны учитываться врачом при определении оптимальной стратегии интенсивной гемостатической терапии для конкретного пациента с острой массивной кровопотерей.

Разработан подход к оценке адгезивной и агрегационной функции тромбоцитов и их участия в формировании кровяного сгустка в зависимости от содержания тромбоцитов в исследуемом образце, который может быть легко перенесен в широкую клиническую практику для выявления дисфункции тромбоцитов у пациентов с тромбоцитопенией различного генеза и более точной оценки степени геморрагического риска, а также для предварительной оценки возможности коррекции системы гемостаза у конкретного пациента. Экспериментально доказано, что в условиях тромбоцитопении эффективность гемостатических средств – концентрата фактора фон Виллебранда, концентрата фибриногена, активированного концентрата протромбинового комплекса, концентрата фактора XIII и активируемого тромбином ингибитором фибринолиза – зависит как от содержания тромбоцитов в крови, так и от степени гемодилюции и гиперфибринолиза, являющихся частыми осложнениями при острой массивной кровопотере. Учет выявленных закономерностей в действии указанных средств позволит существенно повысить эффективность интенсивной гемостатической терапии при тяжелой тромбоцитопении.

При исследовании возможности коррекции генерации тромбина у пациентов с тромбастенией Гланцмана с помощью концентрата рекомбинантного активированного фактора VII в условиях *ex vivo* выделены три

категории пациентов, отличающиеся по силе ответа на этот препарат (с «сильным», «средним» и «слабым» ответом), что объясняет высокую межиндивидуальную вариабельность его гемостатической эффективности. Определение принадлежности к одной из этих категорий позволит априори оценить эффективность и возможные риски применения концентрата рекомбинантного активированного фактора VII и персонализировать его дозу.

Экспериментально доказана эффективность применения концентратов фибриногена и/или фактора XIII для коррекции гемостатического потенциала крови при тромбастении Гланцмана. Полученные автором результаты являются обоснованием для проведения клинических испытаний этих лекарственных средств для экстренной профилактики и купирования больших кровотечений при указанной патологии. Это имеет большое значение для практики, поскольку в настоящее время единственным системным гемостатиком, рекомендованным для экстренной коррекции гемостатического потенциала крови при тромбастении Гланцмана, является концентрат рекомбинантного активированного фактора VII, который у части пациентов неэффективен.

Предложен способ оценки степени угнетения функциональной активности тромбоцитов под влиянием ацетилсалициловой кислоты и антагонистов рецепторов P2Y<sub>1</sub> и P2Y<sub>12</sub>, основанный на анализе формирования комплекса «фибриноген–интегрин  $\alpha$ IIb $\beta$ 3–цитоскелет» (тестировании прочности связи интегринов  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 с фибриногеном и оценке степени ассоциации интегринов  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 с цитоскелетом) в динамике агрегации тромбоцитов, который может стать основой для разработки нового метода оценки остаточной реактивности тромбоцитов, персонализированного подбора вида и дозы антитромбоцитарных препаратов и прогнозирования риска кровотечений при их назначении.

**Оценка достоверности результатов исследования** выявила, что:

Идея диссертационного исследования базируется на известных, проверяемых фактах, изложенных в трудах отечественных и зарубежных

ученых, посвященных патофизиологии нарушений гемостатического потенциала крови, и клинических рекомендациях по диагностике, лечению и профилактике кровотечений при различных геморрагических состояниях. Методологической основой исследования избран метод моделирования геморрагических состояний, позволяющий изучать вклад определенных патогенетических факторов в их развитие и возможности коррекции гемостатического потенциала крови с помощью гемостатических средств.

Результаты получены с использованием современных прецизионных общепринятых методов исследования системы гемостаза, адекватных поставленной цели и задачам, сертифицированных реактивов и оборудования. Выполнение экспериментов отражено в протоколах лабораторных исследований, а полученные при этом результаты зарегистрированы в соответствующих формах учета, что подтверждено проверкой первичной документации. Анализ полученных результатов выполнен с применением методов статистического анализа, выбор которых обоснован дизайном конкретного эксперимента. Представленные результаты непротиворечивы и сопоставимы с результатами других авторов. Интерпретация результатов исследования выполнена на высоком научном уровне. Научные положения, выводы и практические рекомендации логично вытекают из содержания диссертации и отражают решение поставленных задач.

Вышеизложенное позволяет считать результаты диссертационного исследования достоверными, а сформулированные на их основе научные положения, выводы и практические рекомендации обоснованными. Автореферат диссертации полностью соответствует ее содержанию.

По материалам диссертации опубликованы 62 научные работы, в т. ч. 16 статей, из которых 4 – 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.

**Личный вклад автора** диссертационного исследования заключается в том, что автору принадлежит ведущая роль в выборе научного направления, постановке цели и задач, выборе методологии исследования, разработке экспериментального дизайна, выборе специальных методов исследования. Автор самостоятельно выполнил все описанные в диссертации эксперименты, статистическую обработку, анализ, обобщение и интерпретацию полученных результатов, которые были лично представлены им на многочисленных научных конференциях. Автор внес определяющий вклад в оформление полученных им результатов исследования в виде статей, опубликованных в рецензируемых научных журналах. Вклад ученых, оказавших содействие в выполнении работы, отражен в публикациях по теме диссертации.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и полностью соответствует требованиям п. 15 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденным приказом ректора Сеченовского Университета от 31.01.2020 г. №0094/Р, предъявляемым к докторским диссертациям.

На заседании 20 октября 2020 года диссертационный совет принял решение присудить Буднику Иван Александровичу ученую степень доктора медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 6 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 20, против присуждения ученой степени - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель

диссертационного совета

Быков Анатолий Сергеевич

Ученый секретарь

диссертационного совета

Калужин Олег Витальевич



«22» октября 2020 г.