ОТЗЫВ

официального оппонента

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 выполненной работы. Диссертация Будника Ивана Александровича посвящена актуальной проблеме современной медицины — выявлению молекулярно-клеточных механизмов нарушений гемостатического потенциала крови и разработке новых эффективных патогенетически обоснованных подходов к их коррекции при состояниях высокого геморрагического риска, сопряженных с патологией плазменного и тромбоцитарного компонентов системы гемостаза и гиперактивацией фибринолиза. Указанные состояния нередко осложняются возникновением тяжелого, трудно контролируемого кровотечения с высоким риском летального исхода.

В настоящее время для экстренной коррекции гемостатического потенциала крови все чаще применяются антифибринолитические средства и концентраты факторов свертывания крови, однако их применение не всегда позволяет достичь оптимального гемостатического контроля.

В связи с этим диссертационное исследование И.А. Будника представляется крайне актуальным и востребованным для науки и практики.

Диссертационная работа выполнена по плану НИР ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Направленность работы соответствует стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации, приоритетными направлениями которой являются ускоренное развитие фундаментальных и прикладных научных исследований и использование их результатов для разработки и внедрения современных методов прогнозирования, диагностики и мониторинга течения опасных (в том числе неинфекционных) заболеваний, персонализированной медицины и новых медицинских технологий.

Новизна исследования, полученных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации заключается в том, что И.А. Будником впервые:

- созданы оригинальные экспериментальные модели травматической коагулопатии, изолированной тромбоцитопении и тромбастении Гланцмана *in vitro*;
- установлен вклад ведущих факторов патогенеза травматической коагулопатии гемодилюции, гиперфибринолиза, гипотермии и ацидоза в нарушение гемостатического потенциала крови и показано, что его коррекция может быть достигнута путем применения комбинаций концентратов факторов свертывания и транексамовой кислоты в субэффективных концентрациях;
- определены наиболее эффективные комбинации гемостатических препаратов системного действия, позволяющие достичь максимальной коррекции гемостатического потенциала крови в зависимости от степени гемодилюции, уровня фибринолитической активности и механизма ее индукции (вида действующего активатора плазминогена), содержания в крови тромбоцитов и их функционального состояния;
- разработан способ оценки адгезивной и агрегационной функции тромбоцитов и их участия в формировании кровяного сгустка в условиях изолированной тромбоцитопении;
- определены категории пациентов с тромбастенией Гланцмана, отличающиеся степенью ответной коррекции генерации тромбина с помощью концентрата рекомбинантного активированного фактора VII *ex vivo* (с «сильным», «средним» и «слабым» ответом);
- выявлена коррекция гемостатического потенциала крови при тромбастении Гланцмана путем стимуляции прокоагулянтной активности тромбоцитов через рецепторы, сопряженные с гетеротримерным G-белком (через рецепторы тромбина (PAR-1 и PAR-4), аденозиндифосфата (P2Y₁ и P2Y₁₂) и тромбоксана A_2 (TP));
- обнаружены новые закономерности формирования комплекса «фибриноген интегрин αIIbβ3 цитоскелет» в динамике агрегации тромбоцитов и установлено, что механизм угнетения функций тромбоцитов при использовании ацетилсалициловой кислоты и антагонистов рецепторов

Р2У1 и Р2У12 включает нарушение формирования указанного комплекса.

Значимость для науки и практики полученных диссертации результатов. Проведенное И.А. Будником исследование расширяет представления о роли гемодилюции, гиперфибринолиза, гипотермии и ацидоза в нарушениях формирования кровяного сгустка и доказывает возможность его коррекции путем комбинированного применения гемостатиков с разным механизмом действия. Трансляция данного подхода в клиническую практику позволит повысить эффективность гемостатической терапии при травматической коагулопатии без риска тромботических осложнений. Соискателем установлено, что эффективность комбинаций гемостатических средств во многом зависит от наличия и степени гемодилюции. гиперфибринолиза и механизма его ин**дук**ции действующего активатора плазминогена), наличия качественных количественных дефектов тромбоцитарного компонента системы гемостаза, ЧТО обосновывает необходимость применения дифференцированного подхода к использованию гемостатических средств в зависимости от конкретного сочетания указанных патогенетических факторов.

Обнаруженная вариабельность эффекта концентрата рекомбинантного активированного фактора VII при исследовании достижимости коррекции генерации тромбина у пациентов с тромбастенией Гланцмана указывает на необходимость персонализированного подбора его дозы. Наряду с этим, зарегистрированная в модели указанной патологии коррекция формирования кровяного сгустка путем стимуляции прокоагулянтной активности тромбоцитов через рецепторы, сопряженные с G-белком, может быть использована для разработки новых средств экстренной гемостатической терапии при тромбастении Гланцмана.

Разработанный И.А Будником новый подход к оценке степени угнетения **функ**циональной активности тромбоцитов при действии ингибиторов ИХ функций, основанный на анализе формирования внутриклеточного комплекса «фибриноген – интегрин αIIbβ3 – цитоскелет», может служить основой нового метода оценки остаточной реактивности тромбоцитов с целью персонализированного подбора дозы и вида средств антитромбоцитарной терапии.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и

выводов диссертационной работы. Полученные результаты и практические рекомендации по применению концентратов плазменных факторов с прокоагулянтной активностью, антифибринолитических и антиагрегантных (антитромбоцитарных) средств целью направленной коррекции гемостатического потенциала крови могут быть внедрены в работу профильных НИИ и лечебных учреждений, в образовательный процесс для студентов медицинских вузов, а также в программу подготовки кадров в ординатуре, аспирантуре И ПО программам дополнительного профессионального образования (повышения квалификации профессиональной переподготовки). Разработанные соискателем оригинальные экспериментальные модели состояний высокого (травматической геморрагического риска in vitro коагулопатии, изолированной тромбоцитопении, тромбастении Гланцмана) применяться в исследованиях по доклинической оценке эффективности гемостатических средств при соответствующих формах патологии системы Результаты диссертационного исследования И.А. 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. академика А.А. Богомольца и научную работу Центра коллективного пользования НИИ фундаментальной клинической уронефрологии ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, результатов и выводов, сформулированных в диссертации, сомнений не Учитывая вызывают. большой объем тщательно спланированных исследований, выполненных с использованием адекватных поставленным задачам современных методов оценки состояния системы гемостаза (тест тромбина, тромбоэластометрия, световая трансмиссионная агрегометрия, исследование функций тромбоцитов при высокой скорости сдвига) и биохимических методов (электрофорез белков в полиакриламидном геле, иммуноблоттинг), грамотный статистический анализ полученных результатов, их сопоставимость с данными других авторов,

утверждать, что представленные автором результаты являются высоко достоверными, а положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, – аргументированными и научно обоснованными.

Материалы диссертации широко апробированы на международных (в том числе зарубежных) и всероссийских научно-практических мероприятиях.

По теме диссертационного исследования опубликовано 62 научных работы, в том числе 16 статей, из них 12 в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных Scopus и Web of Science, и 4 – в изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, утвержденный ВАК при Минобрнауки России. Средневзвешенный импактфактор журналов, в которых опубликованы статьи по теме диссертации, составляет 2,5. Статьи полностью отражают содержание диссертационного исследования.

Диссертация написана в традиционном стиле, изложена на 325 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы с изложением материала и методов исследования, четырех глав с результатами собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

Результаты исследований проиллюстрированы 55 рисунками и 8 таблицами. Иллюстративный материал существенно дополняет представленные результаты и облегчает их анализ. Список литературы включает 398 источников на английском и русском языках.

Во введении диссертации автором четко сформулированы актуальность и степень разработанности темы, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов.

Обзор литературы (глава 1) написан фундаментально, свидетельствует о широком кругозоре автора и его профессиональной ориентации в вопросах, касающихся механизмов нарушения гемостатического потенциала крови и актуальных методах его коррекции при травматической коагулопатии, первичной иммунной тромбоцитопении, тромбастении Гланцмана, а также при кровотечениях на фоне антитромбоцитарной терапии. На основании обобщения литературных данных автор аргументирует проведение собственных исследований.

Дизайн научной работы представляется логичным, экспериментальные модели адекватными и корректными, а объем исследований достаточным для решения поставленных задач. Эксперименты выполнены в условиях *in vitro* и *ex vivo* с использованием крови, полученной от здоровых добровольцев и пациентов с тромбастенией Гланцмана и первичной иммунной тромбоцитопенией. Методы исследования (глава 2) изложены в объеме, необходимом для их воспроизведения. Методы статистического анализа полученных данных описаны корректно.

Разделы с описанием результатов собственных исследований (главы 3-6) содержат исчерпывающую информацию о нарушениях гемостатического потенциала крови при гемодилюции, гиперфибринолизе, качественных и количественных дефектах тромбоцитарного звена системы гемостаза, а также о возможности коррекции обнаруженных нарушений с помощью различных гемостатических препаратов, которые еще не используются в клинической практике при данных формах патологии. При этом большое внимание наиболее эффективных комбинаций уделяется поиску препаратов, позволяющих достичь максимальной коррекции системы гемостаза в зависимости конкретного сочетания патогенетических Отдельного внимания заслуживает разработка метода оценки адгезивной и агрегационной функций тромбоцитов в условиях тромбоцитопении различной тяжести, а также степени угнетения функциональной активности тромбоцитов при использовании антитромбоцитарных средств. изложении материала автор дифференцированно применяет различные методы статистического анализа, соответствующие дизайну конкретного эксперимента.

В заключении диссертации соискатель обобщает полученные результаты, анализирует их и сопоставляет с данными литературы, формулирует выявленные закономерности нарушений гемостатического потенциала крови и новые принципы его коррекции при геморрагических состояниях, подводит итоги проведенного исследования.

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации, оформлен в соответствии с требованиями актуального ГОСТ.

Принципиальных замечаний к работе не имею. Однако замечу, что в цели и задачах корректно использовать формулировки «установить»,

«охарактеризовать», «определить», «разработать» и т.д., а не «изучить» или «исследовать», поскольку они должны быть направлены на конкретный результат, а не на процесс его достижения.

При ознакомлении с содержанием диссертации возникли вопросы:

- 1. Почему, по Вашему мнению, ацидоз (являющийся не только следствием протеолиза, но и причиной его активации) не оказывал влияния на формирование и лизис сгустка крови в модели травматической коагулопатии *in vitro*?
- 2. Чем объясняется ослабление антифибринолитического действия транексамовой кислоты при повышении концентрации фибриногена в модели травматической коагулопатии *in vitro*?
- 3. Что обусловливает различия результатов коррекции генерации тромбина у пациентов с тромбастенией Гланцмана при использовании концентрата рекомбинантного активированного фактора VII в условиях *ex vivo*?

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 научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение научной проблемы по установлению молекулярно-клеточных механизмов нарушений гемостатического потенциала при геморрагических состояниях и разработке новых патогенетически обоснованных подходов к его коррекции, имеющей важное фундаментальное значение для развития патологической физиологии, а также медицинской науки в целом.

По своей актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертация Ивана Александровича Будника соответствует критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 «О порядке присуждения ученых степеней» (c изменениями, утвержденными постановлением Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016,

№ 1168 от 01.10.2018 в редакции от 31.08.2019), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Будник Иван Александрович заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03 — патологическая физиология.

Официальный оппонент: заведующий кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН

Уразова Ольга Ивановна

03.03.2020 г.

Уразова Ольга Ивановна, д-р мед. наук (14.03.03 - патологическая физиология), профессор (по кафедре патофизиологии), член-корреспондент **PAH** (обшая патология). заведующий кафедрой патофизиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России); 634050, г. Томск, Московский тракт, д. 2, http://www.ssmu.ru, e-mail: urazova72@yandex.ru, телефоны: +7 (3822) 901-101, доп. 1742 (раб.), +7 (903) 913-14-83 (моб.).

подпись заверяю

ченый секретарь

М.Ю. Хлусова