

Відзив

офіційного опонента на дисертаційну роботу Пирогової Людмили Віталіївни
“Формування та гідроліз фібринового згустку в плазмі крові людини за патологічних станів та за дії екзогенних факторів”, що подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Порушення динамічному балансу між зсідаючою та фібринолітичною ланками системи гемостазу становить основу функціональних порушень, що є провідною причиною смертності осіб працездатного віку у світі. Оцінка стану гемостатичного балансу конкретного хворого дає змогу вносити необхідні корективи в лікувальний процес, зокрема відтерміновувати хірургічні втручання до нормалізації показників. Тому всебічне вивчення механізмів регуляції системи гемостазу, її порушень та ролі ендогенних та екзогенних чинників, що виявляють на неї вплив, становить задачу, актуальну як з науково-пізнавальної, так і практичної точок зору. На жаль, не зважаючи на багаторічні інтенсивні дослідження, що проводяться по всьому світу, та значний поступ, досягнутий протягом останніх десятиріч, ця задача все ще далека від остаточного та вичерпного вирішення. При цьому визнається за доцільне проведення комплексного визначення різноспрямованих показників системи, що більш-менш обґрунтовано надає змогу судити про стан конкретного хворого. Тому мета розглянутої роботи, а саме створення методу аналізу стану системи гемостазу, що дає змогу визначити рівні активації, взаємодії та зв'язку між компонентами системи гемостазу протягом формування та лізису фібринового згустку за хвороб, пов'язаних з порушенням системи гемостазу, та за дії антитромботичних агентів, видається цілком обґрунтованою та заперечень не викликає. Відповідно до поставленої мети сформульовано низку практичних питань, що включають комплексне застосування оцінки загального гемостатичного потенціалу згідно класичних робіт Маргарет Бломбек з кількісною оцінкою утворення і руйнування фібринового згустку за показниками турбідиметричної кривої; проведення на основі цього удосконаленого методу оцінки стану системи гемостазу у хворих з патологіями, в тій чи іншій мірі обумовлених її порушенням; визначення в плазмі крові цих хворих вмісту таких визнаних маркерів стану системи гемостазу, як розчинний фібрин, D-димер, протеїн С та фібриноген; проведення аналізу кореляційного і функціонального зв'язку між параметрами загального гемостатичного потенціалу та вмістом цих маркерів; дослідження створеним методом гемостатичного потенціалу впливу на зсідання крові та лізис фібринового

згустку гепарину та калікс[4]арену C-145. Подібна деталізація видається обґрунтованою та заперечень не викликає.

Робота побудована за традиційною схемою і містить анотацію, вступ, огляд літератури, експериментальну частину, результати досліджень та їх обговорення, заключення, висновки та огляд літератури. Як впливає з огляду літератури, автор належним чином ознайомилась з сучасними уявленнями про систему гемостазу та її основні підсистеми (зсідання крові, фібриноліз та антикоагулянтна система), а також про функціональні взаємозв'язки між ними. Належної уваги приділено й методам дослідження цих систем, причому особливий наголос робиться на методах діагностики порушень систем зсідання крові та фібринолізу. Варто відмітити, що серед цитованої літератури переважають роботи останніх 10 – 15 років. Стосовно методичної частини роботи, необхідно відзначити дві особливості. Перш за все, впадає у око застосування широкого набору біохімічних методів – як дослідницьких, так і препаративних. Визначення ж гемостатичного потенціалу та вмісту основних його маркерних компонентів у численних досліджуваних групах хворих проводили методами, створеними у відділі структури і функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, що зайвий раз підкреслює як високий методичний рівень роботи, так і гідну схвалення спадкоємність багаторічних досліджень відділу. Планування окремих груп експериментів видається обґрунтованим і повною мірою відповідає завданням роботи.

Отже, можна впевнено говорити про високий науковий та методичний рівень розглянутої роботи. Дійсно, внаслідок її проведення вперше показано кореляцію між рівнями фібриногену, розчинного фібрину, D-димеру та протеїну С, а також параметрами формування та лізису фібринового згустку, отриманими турбідиметричним методом. Проаналізовано характер зв'язків між цими молекулярними маркерами та параметрами загального гемостатичного потенціалу. Зокрема, на прикладі групи хворих на хронічну хворобу нирок проведено кореляційний аналіз залежності між вмістом розчинного фібрину, вмістом протеїну С, фібринолітичним потенціалом, потенціалом згортання та вмістом фібриногену, що свідчить про існування чітких кореляційних зв'язків між системами зсідання крові, фібринолізу і антикоагулянтною системою протеїну С. Натомість, кореляція між вмістом розчинного фібрину та D-димеру відсутня. Статистичну обробку отриманого експериментального матеріалу та кореляційний аналіз між окремими показниками досліджуваної системи виконано коректно. На підставі отриманих даних обґрунтовано припущення про утворення фібринових мікрозгустків як необхідної проміжної ланки для формування D-димеру протягом лізису фібринового згустку. Окремого

обговорення варті результати дослідження впливу на гемостатичний потенціал крові гепарину, калікс[4]арену С-145 та хітозану. Якщо інтерес до результатів, отриманих із застосуванням гепаринів, цілком зрозумілий, то дослідження впливу на гемостатичний потенціал таких речовин, як калікс[4]арен С-145 та хітозан, можуть викликати подив. Однак не варто забувати про те, що за умов *in vivo* система гемостазу функціонує в присутності великої кількості молекулярних компонентів, що начебто не мають до неї ніякого відношення. Остання обставина набуває гостроти за умов прискореної деградації тканин за розвитку характерного для запальних та онкологічних захворювань нефункціонального протеолізу. Інтенсивне вивільнення в кровообіг розчинних компонентів міжклітинного матриксу (згідно сучасної термінології – міжклітинної полімерної речовини), що значною мірою складається з фрагментів колагену. Тобто дослідження впливу різноманітних екзогенних факторів на гемостатичний потенціал становить безсумнівний інтерес і заслуговує особливого обговорення. Це стосується як калікс[4]арену С-145, так і хітозану (останній чомусь взагалі не згадується в авторефераті). Обидві сполуки видаються перспективними для біотехнології та фармацевтики, тож їх вплив на систему гемостазу заслуговує уваги.

Результати дослідження свідчать про придатність та інформативність створеного методу для вирішення завдань клінічної діагностики. На прикладі груп хворих з патологіями, пов'язаними з порушенням гемостатичного балансу, експериментально доведено цінність визначення загального гемостатичного потенціалу крові створеним способом. Варто також підкреслити, що створений підхід щонайменше не поступається за інформативністю відомим закордонним аналогам, однак вигідно відрізняється тим, що не потребує дорого обладнання та може бути впровадженим в нашій країні.

З наведених міркувань можна впевнено говорити про належний рівень як наукового, так і практичного значення роботи. За рівнем опублікованості отриманих здобутків (6 статей у фахових журналах та 7 тез доповідей на вітчизняних та міжнародних наукових форумах) робота повною мірою відповідає існуючим вимогам. Висновки роботи в цілому відповідають отриманим результатам та заперечень не викликають. Принципових зауважень до роботи немає. Щоправда, хотілось би почути думку автора щодо наступних питань:

- Чому в авторефераті не відмічені два патенти, що наведені в дисертації та явно отримані за її матеріалами?

- Чим, на Вашу думку, може бути пояснена відсутність кореляції між концентрацією розчинного фібрину та D-димеру? Наскільки коректно робити висновки про загрозу внутрішньосудинного тромбоутворення за концентрацією D-димеру?

- Наскільки реальним є впровадження методу ЗГП у рутинну діагностичну практику? Чи маєте Ви якусь інформацію про зацікавленість лікувальних установ в впровадженні цієї новації?

- У вашій роботі обґрунтовується положення про взаємну регуляцію прота антикоагулянтної ланок гемостазу. Яку роль у цій регуляції Ви відводите протеїну С?

Як видно, наведені запитання не впливають на високу оцінку дисертаційної роботи вцілому і носять швидше дискусійний характер. Вважаю, що розглянута дисертаційна робота є цілісною, закінченою науковою працею, що повною мірою відповідає вимогам п.п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), що висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор - Пирогова Людмила Віталіївна - заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент - завідувач лабораторії біохімії
ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С.Коломійченка НАМН України»,
доктор біологічних наук, професор Верьовка С.В.




