

Відзив

офіційного опонента на дисертаційну роботу Чернишенка Володимира Олександровича "Пошук та вивчення механізмів дії нових біологічно активних сполук та біоматеріалів, що впливають на зсідання крові", подану на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Тяжкість та непередбачуваність ускладнень, обумовлених порушеннями системи гемостазу, спричиняють неослабний інтерес до молекулярних механізмів взаємодій між її молекулярними та клітинними компонентами, пошуком засобів та підходів до нормалізації стану системи. І те, і інше має очевидне практичне значення, причому будь-якій поступ в цьому значенні може бути досягнутим лише за виконання досліджень на високому науково-методичному рівні. Особливої уваги заслуговує з'ясування механізмів внутрішньосудинного та екстрасудинного тромбоутворення, що посідають левову частку причин смертності населення. Тому ні щодо актуальності, ні щодо науково-практичного значення тема розглянутої робота жодних заперечень не викликає. Мета роботи полягала в дослідженні механізмів дії нових біологічно активних сполук та біоматеріалів, що здатні впливати на зсідання крові. Для досягнення подібної різнопланової та комплексної мети сформульовано низку практичних завдань, що включали дослідження ендогенних та екзогенних сполук щодо оцінки їх здатності модулювати агрегацію тромбоцитів; розробку способу отримання висококонцентрованої суспензії тромбоцитів, з'ясування їх функціональної здатності та придатності для біомедичного застосування; випробування *in vivo* антитромботичних властивостей калікс[4]арену С-145; розробку кровоспинного засобу на основі ензимного активатора зсідання крові та активованих волокнистих вуглецевих матеріалів; оцінку препарату колагену як основи здатного до біодеградації кровоспинного засобу; розробку способів отримання перспективних для клінічного застосування препаратів фібринового композиту та високоактивного

препарату тромбіну. Подібна деталізація видається обґрунтованою і також не викликає заперечень.

Дисертація побудована за традиційною схемою та містить анотацію, вступ, огляд літератури, методичну частину, експериментальну частину, заключення, висновки та список цитованої літератури. Ознайомлення з оглядом літератури дає змогу заключити про належне ознайомлення автора з сучасними уявленнями про механізми регуляції гемостатичної системи, в першу чергу – з її зсідаючою ланкою, підходами та засобами її регуляції. Відповідно до напрямку досліджень, особливої уваги приділено сполукам, що запобігають внутрішньосудинному тромбоутворенню та стимулюють екstrasудинне.

Відповідно до різнопланового характеру роботи, методична частина відрізняється широким набором сучасних біохімічних та біофізичних методів, підходів клітинної біології та дослідницьких методів роботи з піддослідними тваринами, методів клінічної діагностики. Для обчислення отриманих результатів застосовано адекватні статистичні методи.

Характерною особливістю компоновки та змісту експериментальної частини відрізняється дискретністю. Дана риса роботи обумовлена особливістю поставлених дослідницьких завдань і навряд чи може бути визнаною за недолік, тим більше, що кожен з досліджуваних напрямків вартий окремого поглибленого дослідження. Отримані внаслідок проведеної роботи наукові та практичні здобутки видаються вагомими та становлять значний інтерес. Так, внаслідок аналізу механізмів активації системи зсідання крові обґрунтовано доцільність обрання етап активації протромбіну як найперспективнішу стадію застосування прокоагулянтних засобів. Обґрунтовано положення про недостатню ефективність використання неспецифічних ефекторів, що активують систему зсідання крові перед протромбіном, а також недоцільність застосування тромбіноподібних ензимів, які завершують функціонування каскаду на етапі фібриноутворення. Це дозволило вперше запропонувати ензимний активатор протромбіну для надання біоматеріалам прокоагулянтних властивостей. Створені з використанням цього підходу кровоспинні та

ранозагоювальні матеріали пройшли всебічну апробацію *in vitro* та *in vivo*. Експериментально доведено переваги цих матеріалів порівняно до відомих аналогів. Тим самим підтверджено положення про виключне значення підходів, що ґрунтуються на активації протромбіну, для створення препаратів для стимуляції екстрасудинного тромбоутворення. На підставі отриманих результатів комплексного дослідження молекулярних механізмів екстра- та внутрішньосудинного тромбоутворення обґрунтовано концепцію про ключові (реперні) стадії системи гемостазу для створення нових про- та антикоагулянтних засобів. Експериментально доведено доцільність інгібування чи активації цих ланок гемостазу. Проведено експериментальну оцінку групи біологічно активних сполук, речовин та біоматеріалів з точки зору їх впливу на тромбоцити. Сполуки, здатні інгібувати активацію тромбоцитів видаються перспективними засобами при проведенні антикоагулянтної терапії, тоді як активатор тромбоцитів на основі діоксиду силіцію видається потенційним компонентом засобів зупинки локальних кровотеч. Відносно інертні речовини можуть бути потенційними носіями для терапевтичних сполук, що контактують з кров'ю. Обговорення отриманих результатів та висновки роботи повною мірою відповідають отриманому матеріалу та заперечень не викликають.

Таким чином, можна впевнено говорити про висококваліфіковане, виконане на високому науково-методичному рівні дослідження, внаслідок якого отримано вагомі наукові та практичні здобутки. Рівень їх опублікованості повною мірою відповідає існуючим вимогам. За ними опубліковано 35 статей у фахових журналах та закордонних виданнях, 6 патентах України, матеріали роботи багатократно доповідали на вітчизняних та міжнародних з'їздах та конференціях. Варто підкреслити, що розроблений спосіб отримання колагенувпроваджено в виробництво, а спосіб отримання суспензії аутологічних тромбоцитів – в біомедицині, що підтверджено відповідними актами.

Принципових зауважень до роботи немає. Щоправда, хотілось би отримати відповідь на наступні питання:

- В роботі при розгляді способів стимуляції екстраваданного тромбоутворення залишено поза увагою більш ніж ймовірну участь системи фібринолізу. Чи існує, на думку дисертанта, доцільність застосування інгібіторів системи фібринолізу в складі біоматеріалів з прокоагулянтною дією?

- Для стимуляції екстраваданного тромбоутворення використано активатор протромбіну. Хотілось би почути, в чому, на думку дисертанта, полягає основна перевага цього підходу перед застосуванням відомих ензимів, що безпосередньо стимулюють полімеризацію фібрину?

- Чому здобутки в галузі створення кровоспинних агентів мало охоплено публікаціями? Як на мою думку, вони явно варті більшої уваги.

- Певні заперечення викликає розподіл експериментального матеріалу по розділах.

Наведені питання не впливають на високу оцінку роботи в цілому. 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 висувуються до докторських дисертацій, а її автор - Чернищенко Володимира Олександрович - заслуговує на присудження наукового ступеня доктора 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 *В.В. Верьовка* Верьовка С.В.

