

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Вотрина Сергея Владимировича

«ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРФТОРУГЛЕРОДНОЙ КРОВЕЗАМЕЩАЮЩЕЙ ЭМУЛЬСИИ  
ПРИ АНЕМИИ У ЖИВОТНЫХ, ВЫЗВАННОЙ ОСТРЫМ ВНУТРИСОСУДИСТЫМ  
ГЕМОЛИЗОМ»,

представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.03.01 – «физиология»

**Актуальность темы.** Главной задачей клинической практики при анемии является устранение гипоксии и доставка кислорода к органам и тканям при кровопотере. Для решения этой задачи группами советских и российских ученых был разработан препарат «Перфторан» - кровезаменитель с функцией переноса кислорода. «Перфторан» разрешен к клиническому применению, состоит из смеси перфторорганических соединений и является лекарственным средством для лечения острой кровопотери, гипоксических и ишемических состояний различного генеза.

Диссертация Вотрина Сергея Владимировича посвящена применению кровезаменяющей эмульсии перфторуглеродов при анемии у животных, вызванной острым внутрисосудистым гемолизом.

До настоящего времени коррекция гипоксии при тяжелой аутоиммунной анемии, вызванной острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом, посредством гемокорректора, остаётся плохо изученной. Поэтому использование различных гемокорректоров актуально, особенно для коррекции гипоксии при тяжелой анемии. Таким образом, актуальность темы диссертационной работы С.В. Вотрина, посвященной изучению острого аутоиммунного внутрисосудистого гемолиза и выбору эффективного гемокорректора для купирования тяжелой гипоксии, возникшей вследствие данного патологического процесса с использованием традиционно применяемой эритроцитарной массы и перфторуглеродной кровезаменяющей эмульсии – препарата «Перфторана», несомненна.

**Новизна исследования и полученных результатов.** В диссертации С.В. Вотрина подробно исследуется применение перфторуглеродной эмульсии – препарата «Перфторан» при острой постгеморрагической анемии. Работа разделена на два блока исследований. Изучен патогенез анемии, вызванной острой кровопотерей и острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом у животных, и проведена оценка эффективности применения



перфторуглеродной эмульсии – препарата «Перфторан» в сравнении с донорскими эритроцитами при этих патологиях.

Показано, что коррекция гипоксии при острой кровопотере с помощью газотранспортных препаратов: перфторуглеродной эмульсии «Перфторан» и донорской эритроцитарной массы, более эффективна по сравнению с традиционным лечением гипоксии препаратами без газотранспортной функции.

Высказано предположение, что при остром аутоиммунном внутрисосудистом гемолизе, в отличие от острой кровопотери, гипербилирубинемия является важным звеном патогенеза, при этом тяжелая гипоксия, осложненная гипербилирубинемией, может приводить к более высокой летальности.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Результаты, полученные диссертантом, основаны на применении современных научных методов. В работе сделан глубокий анализ данных и теоретических положений других авторов по теме исследования. Обоснованность результатов, полученных С.В. Вотриным, основана на соответствии цели работы, поставленных задач, полученных результатов и сформулированных выводов.

**Достоверность результатов и выводов.** Высокая степень достоверности результатов определяется современными апробированными методами исследования. Достоверность результатов подтверждена применением статистических методов анализа экспериментальных данных.

**Теоретическая и практическая значимость.** Результаты, представленные в диссертации, могут быть использованы при разработке эффективных терапевтических действий для купирования гипоксии, в том числе перфторуглеродными эмульсиями типа препарата Перфторан.

Несомненную практическую ценность имеют разработанные диссертантом рекомендации и методы по использованию перфторуглеродных эмульсий типа препарата «Перфторан» для купирования гипоксии при анемии, вызванной острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом.

Разработаны рекомендации по противопоказаниям использования донорских эритроцитов при острой стадии аутоиммунного внутрисосудистого гемолиза у животных.

Особого внимания заслуживают разработанные рекомендации по безопасности применения перфторуглеродных эмульсий типа препарата «Перфторан» у животных.

Предложенные в работе маркеры гипоксических состояний при остром аутоиммунном внутрисосудистом гемолизе также могут быть использованы в клинической медицине.



**Структура и объем работы.** Диссертация С.В. Вотрина оформлена традиционно и содержит: Введение, Обзор литературы, Описание материалов и методов исследования, Результаты и Обсуждение для двух блоков экспериментальных исследований, заключения, Выводы и Список цитированной литературы, а также Список используемых в тексте сокращений. Работа изложена на 147 страницах, содержит 17 таблиц и 32 рисунка. Список литературы включает 123 наименований.

**Оценка содержания диссертационной работы.** Название диссертации отражает её содержание. Автореферат отражает основное содержание диссертации. Во введении традиционно излагаются общие вопросы: актуальность темы исследования, цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, информация об апробации работы, а также о структуре и объеме диссертации. Глава «Обзор литературы» включает детальный анализ работ, в которых представлены особенности патогенеза постгеморрагической анемии и аутоиммунной гемолитической анемии, возникшей в результате острого аутоиммунного внутрисосудистого гемолиза, и работ с описанием способов коррекции гипоксии с помощью трансфузии эритроцитарной массы и перфторуглеродных эмульсий. В главе «Материалы и методы» достаточно подробно описываются методы и группы животных, используемые диссертантом в своей работе. Главы 3 и 4 содержат данные, полученные диссертантом в двух блоках ретроспективных исследований. Эти же главы содержат разделы «обсуждение», в которых проводится анализ проведенных экспериментов. Глава «Заключение» обобщает обсуждение результатов проведенных экспериментов. Выводы логично вытекают из результатов работы.

Диссертационная работа С.В. Вотрина написана литературным русским языком, а её содержание представлено в логичной последовательности. Это существенно облегчает восприятие и понимание основных идей, представленных автором

#### **Замечания к работе.**

Имеются некоторые замечания по полученным результатам:

1. В первом блоке исследований коррекция кровопотери в 1 группе ( контроль) препарат Стабизол в дозе 20 мл/кг веса вводили один раз в день на 1, 2, 3, 5, 7 день исследований. Во 2 группе (перфторан) препарат Стабизол в дозе 10 мл/кг веса и препарат Перфторан 10 мл/кг веса в 1, 2, 3, 5, 7 день исследования. Таким образом, в этих двух группах объем вводимых препаратов сопоставим.

У животных 3 группы с использованием донорской ЭМ для лечения в первый день поступления в клинику применялась традиционная инфузионная терапия, включающая в себя использование



- коллоидного раствора «Стабизол» в дозе 20 мл/кг веса, а через сутки после получения травмы и кровотечения по показаниям, на основании низкого гематокрита провели трансфузию донорской ЭМ в дозе 10 мл/кг веса. Таким образом в данной группе объем вводимых препаратов значительно ниже, чем в первых двух группах, что при коррекции кровопотери является важным фактором.
2. При анализе биохимических показателей, характеризующих состояние животных в процессе лечения, в группах с перфтораном и ЭМ, они существенно не отличаются, однако смертность животных в группе ЭМ значительно выше (более чем 2 раза) чем в группе перфторана. Что в данном случае является причиной таких показателей смертности?.
  3. Во втором блоке исследований преимущество использования перфторана при лечении острого аутоиммунного внутрисосудистого гемолиза очевидно. Что можно сказать о механизме действия перфторана в этом случае, поскольку, как известно, перфторан обладает небольшой кислородной емкостью и полностью обеспечить потребность в кислороде при вводимых объемах он не может?

Указанные недостатки не снижают общей оценки высокого уровня и практической значимости диссертационной работы.

#### **Заключение**

Диссертация Вотрина Сергея Владимировича «Применение перфторуглеродной кровезамещающей эмульсии при анемии у животных, вызванной острым внутрисосудистым гемолизом» является законченным самостоятельно выполненным научным исследованием, имеющим практическое значение. Считаю, что диссертационная работа полностью соответствует п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, и паспорту специальности 03.03.01 – физиология, а её автор, Вотрин Сергей Владимирович, несомненно, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук.

Официальный оппонент,  
в.н.с. лаборатории культуры клеток  
и клеточной инженерии ИБК РАН,  
кандидат биологических наук

Склифас Алла Николаевна



Подпись \_\_\_\_\_  
*Склифас А. Н.*  
Удостоверяю *д.в. Камч.*

4 *Ск - 24.05.2021г*

## Сведения об оппоненте

### **СКЛИФАС Алла Николаевна**

*Ученая степень, звание:* кандидат биологических наук (специальность 03.01.02 – биофизика)

*Место работы:* Институт биофизики клетки Российской академии наук (ИБК РАН) - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», лаборатория культуры клеток и клеточной инженерии.

*Должность:* ведущий научный сотрудник

*Адрес организации:* 142290, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 3

*Адрес эл. почты организации:* admin@icb.psn.ru

*Телефон:* (4967) 73-05-19

*Факс:* (4967) 33-05-09

*Сайт организации:* <http://www.icb.psn.ru/>

**Научные публикации ведущего оппонента** по тематике диссертационного исследования Вотрина С.В. за последние пять лет (2016-2021 гг.):

Temnov A.A., Sklifas A.N., Rogov K.A., Klychnikova E.V., Hartl M., Djinovic-Carugo K., Charnagalov A. Protective properties of the cultured stem cell proteome studied in an animal model of acetaminophen-induced acute liver failure // *Molecular Biology Reports*. 2019. V. 46. No. 3. P. 3101-3112.

Темнов А.А., Склифас А.Н., Кукушкин Н.И., Кречетов С.П., Горина Е.В., Астрелина Т.А., Усупжанова Д.Ю., Сучкова Ю.Б., Кобзева И.В., Самойлов А.С. Влияние триблоксополимеров полиоксиэтилена-полиоксипропилена на степень загрузки в мезенхимальные стволовые клетки микрочастиц на основе сополимеров молочной и гликолевой кислот, содержащих хлорин еб и бромистый этидий. // *Биофизика*. 2019. Т. 64. № 2. С. 307-315.

Лебедев В.Г., Дешевой Ю.Б., Темнов А.А., Астрелина Т.А., Рогов К.А., Насонова Т.А., Лырщикова А.В., Добрынина О.А., Склифас А.Н., Мхитаров В.А., Трофименко А.В., Мороз Б.Б. Изучение эффектов стромально-васкулярной фракции, культивированных стволовых клеток жировой ткани и паракринных факторов кондиционной среды при терапии тяжелых лучевых поражений кожи у крыс. // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019. Т. 63. № 1. С. 24-32.

Терещенко А.В., Грифаненкова И.Г., Кодунов А.М., Темнов А.А., Склифас А.Н. Влияние препарата пептидов на постожоговые воспалительные процессы повреждённых тканей роговицы в эксперименте. // *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)*. 2019. Т. 4. № 4. С. 30-35.

Бирюков С.В., Захарова Н.М., Комелина Н.П., Кукушкин Н.И., Семенов В.С., Семенов И.В., Склифас А.Н., Фадеева И.С., Хренов М.О. Средство, включающее перфторуглеродную эмульсию (варианты), его применение и способ создания обратимой фармакологически индуцируемой гипометаболии и гипотермии. / Патент на изобретение RU 2669398 С1, 11.10.2018. Заявка № 2017128720 от 11.08.2017.

Бирюков С.В., Захарова Н.М., Комелина Н.П., Кукушкин Н.И., Семенов В.С., Семенов И.В., Склифас А.Н., Фадеева И.С., Хренов М.О. Средство, включающее перфторуглеродную эмульсию (варианты), его применение и способ повышения устойчивости организма млекопитающих к переохлаждению. / Патент на изобретение RU 2665964 C1, 05.09.2018. Заявка № 2017128724 от 11.08.2017.

Zhalimov V., Sklifas A., Kapsov V., Penkov N., Kukushkin N., Temnov A. The chemical structure of triblock copolymers and the adsorption capacity of perfluorocarbon-core nanoparticles stabilized by them. // *Colloid & Polymer Science*. 2018. V. 296. No. 2. P. 251-257.

Терещенко А.В., Кодунов А.М., Склифас А.Н., Темнов А.А. Способ лечения васкуляризованного бельма роговицы вследствие ожоговой травмы глаза. / Патент на изобретение RU 2635540 C1, 13.11.2017. Заявка № 2016145642 от 22.11.2016.

Усупжанова Д.Ю., Астрелина Т.А., Темнов А.А., Брунчуков В.А., Кобзева И.В., Сучкова Ю.Б., Никитина В.А., Карасева Т.В., Махова А.Е., Брумбер В.А., Склифас А.Н., Бушманов А.Ю., Самойлов А.С., Кукушкин Н.И., Мелерзанов А.В., Кречетов С.П. Разработка метода введения наночастиц в цитоплазму стволовых клеток для направленного транспорта лекарственных веществ. // В книге: Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии. Сборник тезисов VII Всероссийского симпозиума с международным участием. 2017. С. 27-29.

Терещенко А.В., Карадулева Е.В., Трифаненкова И.Г., Кодунов А.М., Темнов А.А., Склифас А.Н. Изучение влияния раствора пептидов на ткани роговицы на модели токсического кератита, осложненного неоваскуляризацией роговицы. // *Катарактальная и рефракционная хирургия*. 2017. Т. 17. № 1. С. 36-41.

Темнов А.А., Склифас А.Н., Мелерзанов А.В., Горина Е.В., Кукушкин Н.И. Использование стволовых клеток костного мозга и наночастиц эмульсий перфторуглеродов для адресной доставки лекарственных препаратов. // *Патогенез*. 2016. Т. 14. № 1. С. 42-50.

Белый Ю.А., Терещенко А.В., Кодунов А.М., Склифас А.Н., Новоселов В.И., Темнов А.А. Сравнительный анализ лечения термического ожога роговицы препаратом раствора пептидов и препаратом раствора антиоксидантов. // *Катарактальная и рефракционная хирургия*. 2016. Т. 16. № 2. С. 41-45.

Хубутя М.Ш., Рогов К.А., Жгутов Ю.А., Склифас А.Н., Клычникова Е.В., Тазина Е.В., Лебедев М.П., Темнов А.А. Влияние условий культивирования стволовых клеток костного мозга на эффективность лечения острой печеночной недостаточности в эксперименте. // *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2016. № 3 (19). С. 46-53.