РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Анастасії УДОВЕНКО
«*Регулювання активності тромбіну і плазміну впродовж формування і розчинення фібринового згустку в плазмі крові людини*»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія

Система гемостазу є ключовим механізмом підтримання цілісності серцево-судинної системи, а порушення її функціонування лежать в основі розвитку багатьох патологічних станів. Важливим є дослідження взаємодії між процесами зсідання та фібринолізу, адже саме баланс між ними визначає стабільність і розчинність фібринового згустку. Актуальність теми дисертаційної роботи Удовенко Анастасії визначається тим, що порушення балансу між цими процесами лежить в основі розвитку тромботичних та геморагічних станів, які становлять серйозну медико-біологічну проблему. За вимогами сучасної медицини, де діагностика та лікування порушень згортання крові потребують точних молекулярних маркерів, дослідження, спрямовані на розкриття механізмів взаємодії між коагуляційною та фібринолітичною системами, мають виняткове значення. Отже, дисертаційна робота Удовенко А.В. є ґрунтовним дослідженням, присвяченим вивченню фундаментальних процесів системи гемостазу людини, зокрема взаємозв'язку між формуванням фібринового згустку та активацією системи зсідання і фібринолізу.

У роботі авторкою встановлено низку нових молекулярних механізмів, що розширюють сучасні уявлення про систему гемостазу. Зокрема, показано, що фібрилярна структура згустку відіграє ключову роль у підтриманні активації протромбіну на стадії ініціації зсідання. Важливим є також доведений факт необхідності накопиченого тромбіну для стадії ампліфікації його активності та подальшого перемикання процесу зсідання на гальмування утворення згустку. Авторка переконливо продемонструвала, що надлишок тромбіну, який звільняється із згустку, взаємодіє з факторами V, VIII та XI, викликаючи сплеск амідазної активності. Це відкриває нові перспективи для розуміння регуляції коагуляційного каскаду.

Особливої уваги заслуговує запропонований новий метод кількісного визначення тромбіну в аналізі генерації тромбіну (TGA), який дозволяє визначати концентрацію тромбіну на кожному етапі тромбограми до і після точки перелому кривої. Такий підхід має значний діагностичний потенціал і може бути використаний у клінічній практиці для більш точного оцінювання стану системи гемостазу.

Наукова новизна роботи полягає також у встановленні конкурентного характеру взаємодії між сайтами полімеризації фібрину та компонентами фібринолітичної системи. Авторка показала, що активація фібринолізу починається на завершальній стадії формування фібрилярної структури згустку, коли утворюються активаційні тріади Glu-Pg–фібрин–Glu-Pm, які запускають процес розчинення згустку. Це відкриття має фундаментальне значення для розуміння молекулярних механізмів регуляції балансу між зсіданням і фібринолізом.

Методологічна база дисертації є сучасною та комплексною. Авторка застосувала широкий спектр біохімічних і молекулярних методів, серед яких турбідиметрія, електронна мікроскопія, імуноензимний аналіз, гель-електрофорез, методи визначення амідолітичної активності ензимів, а також модифікований підхід до TGA. Використання цих методів забезпечило достовірність отриманих результатів і дозволило сформувати цілісну картину динаміки процесів формування та розчинення фібринового згустку. Важливо відзначити, що авторка не лише застосувала відомі методики, але й удосконалила їх, запропонувавши нові підходи до кількісного аналізу.

Основні результати роботи мають як фундаментальне, так і прикладне значення. Виявлена залежність щільності протофібрил від типу ініціатора згортання відкриває перспективи використання цього параметра як діагностичного маркера. Встановлений часовий зв'язок між активацією протромбіну та структурними змінами згустку дозволяє глибше зрозуміти механізми регуляції гемостазу. Доведено, що активація фібринолізу є строго залежною від завершення формування фібрилярної структури, що має важливе значення для розробки нових терапевтичних стратегій у лікуванні тромботичних станів.

Практичне значення роботи полягає у можливості використання запропонованих параметрів та методів у клінічній діагностиці. Новий спосіб підрахунку активності тромбіну може стати основою для створення більш точних діагностичних тестів, а аналіз щільності протофібрил – індикатором стану системи гемостазу у пацієнтів із різними патологіями.

За матеріалами дисертації авторкою опубліковано 5 статей у фахових виданнях, включно з міжнародними журналами, що підтверджує апробацію результатів та їх наукову значимість. Це свідчить про високий рівень самостійності здобувачки та її здатність до продуктивної наукової діяльності.

Дисертаційна робота добре структурована, написана чіткою академічною мовою, результати ретельно проаналізовані та узагальнені. Авторка продемонструвала високий рівень володіння сучасними методами

біохімічних досліджень, уміння інтерпретувати отримані дані та робити обґрунтовані висновки.

По змісту роботи є низка запитань та зауважень, які втім не знижують наукової цінності роботи, а навпаки підкреслюють її перспективність і відкривають нові напрями для подальших досліджень.

Запитання:

Основні зауваження й питання:

1. Як авторка пояснює появу високої активності плазміну після повного гідролізу фібринового згустку, адже відомо, що вільний плазмін у плазмі негайно інгібується α2-антиплазміном? Це запобігає неконтрольованому протеолізу протеїнів плазми та позаклітинного матриксу плазміном – протеазою з широкої субстратною специфічністю. Чи не позначається на результатах роботи використання замороженої плазми, адже розмороження зразків може негативно позначитися на активності інгібітора?

2. Відомо, що активність плазміна у плазмі з'являється при патологічних станах-коагулопатіях, що супроводжуються гіперактивацією фібринолізу або порушенням його регуляції. Вони включають гострі кровотечі, геморагічні стани, ДВЗ-синдром, акушерські ускладнення, спадкові та набуті дефекти інгібіторів фібринолізу, онкологічні, запальні та інфекційні процеси. В описі матеріалів, використаних у роботі, відсутня будь-яка інформація про донорів (вік, стать, стан здоров'я, кількість). Втім, у п. 3.6 розділу «Результати досліджень» йдеться про характеристику стану системи гемостазу пацієнтів з опіками. Чи використовувалася плазма умовно нормальних донорів для розрахунку досліджуваних параметрів?

3. Відсутня інформація про відповідність дослідження з використанням біологічного матеріалу донорів нормам біоетики. У роботі не наведено протокол засідання біоетичного комітету Інституту чи іншої уповноваженої установи, який би підтверджував дозвіл на проведення експериментів з використанням донорського матеріалу. Також відсутні згадки про дотримання чинних біоетичних нормативів та стандартів, що є обов'язковою вимогою для досліджень із залученням біологічних зразків людини.

4. Обґрунтуйте перспективи практичного застосування нового методу кількісного визначення тромбіну та плазміну в клінічній діагностиці? Наскільки він простий у виконанні у рутинних цілях? Скільки часу вимагає проведення аналізу, розрахунок та інтерпретація результатів?

Як порівняння: опис нещодавно розробленого методу, що описано у журналі Blood: FAST (Fibrinolytic Activity Screening Test): a 5-minute assay for measuring fibrinolytic activation (Blood Advances) American Society of Hematology (2026). Аналіз триває 5 хвилин, що наближає вимірювання до реального часу.

5. У тексті дисертації зазначається, що «після реалізації гемостатичної функції активується система фібринолізу. Плазмін, утворений із плазміногену за участі тканинного та урокіназного активаторів плазміногену (tPA та uPA), забезпечує деградацію фібрину, тоді як PAI-1 і α2-антиплазмін обмежують надмірний лізис згустку». Що мається на увазі під «надмірним» лізисом згустку? Можливо, слід замінити на передчасний або занадто швидкий лізис?

6. У дисертаційній роботі вперше висловлено думку про те, що «механізм формування фібрилярної структури згустку витісняє компоненти системи фібринолізу на поверхню фібрил, де відбувається активація Glu-Pg у Glu-Pm під дією t-PA». Поясніть, будь ласка, що мається на увазі під «витісненням» компонентів системи фібринолізу на поверхню фібрил і який його механізм?

7. В тексті дисертаційної роботи фігурують два типи активаційних триад, активаційна тріада Glu-Pg – фібрин – t-PA та Glu-Pg–фібрин–Glu-Pm. Останнє формулювання є достатньо екзотичним і ймовірно вводиться авторкою вперше. Оскільки функціональна різниця між ними в тексті не зазначена, поясніть, будь ласка, активаційними тріадами чого є кожна з них.

Мінорні зауваження і питання:

1. Croatian Medical Journal (це журнал, який відноситься до квартилю цитування Q3, а не Q2). Слід виправити.

2. «2.2.4. Визначення концентрації фібриногену *спектрофоректичним* методом» - виправити на *спектрофотометричним* методом. У підписі до рис. 5 також.

3. Знак десятинної дроби – «,», а не «.» - слід уніфікувати.

4. Відповідно до сталої наукової термінології слід вживати термін «ензими» замість «ферменти» і «протеїни» замість «білки» - необхідно уніфікувати в тексті.

5. Формулювання «маса/довжина відношення фібрил фібринового згустку» має сенс замінити на «відношення маса/довжина фібрил фібриного згустку» або «масо-довжинне співвідношення фібрил фібринового згустку» (як одноразово використано в розділі Матеріали і методи).

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Узагальнюючи викладене в рецензії, слід зазначити, що дисертаційна робота Удовенко Анастасії Вадимівни характеризується високим науковим рівнем, новизною, теоретичним та практичним значенням й відповідає встановленим вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету міністрів України від 12.01.2022 р. № 44. З огляду на актуальність тематики, належний методологічний рівень, особистий внесок здобувачки, достовірність отриманих результатів та їх апробацію у фахових виданнях, дисертація Анастасії УДОВЕНКО «*Регулювання активності тромбіну і плазміну впродовж формування і розчинення фібринового згустку в плазмі крові людини*» може бути рекомендована до офіційного захисту на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Старший науковий співробітник
відділу хімії та біохімії ферментів
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України к.б.н. Яценко Т.А.

06.07.2026

Підпис Яценко Т.А.
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна
національної академії наук України
"06" 07 2026 р.

Національна академія наук України
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна
Ідентифікаційний код 05417288
м. Київ