



Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научно-исследовательский институт гриппа  
имени А.А. Смородинцева»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
(ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»  
Минздрава России)

Почтовый адрес: ул. Профессора Попова, д. 15/17,  
Санкт-Петербург, Россия, 197376  
Тел./факс: +7 (812) 499-15-00  
e-mail: office@influenza.spb.ru  
http://www.influenza.spb.ru  
ОКПО 01898003 ОГРН 1027806881827  
ИНН/КПП 7813045650/781301001

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБУ «НИИ гриппа  
им. А.А. Смородинцева»

Минздрава России

доктор медицинских наук, доцент

Д.А. Лиознов



2022 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного учреждения  
«Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертационная работа «Экспериментальное обоснование новых подходов к диагностике и фармакотерапии токсических нефропатий» выполнена на базе лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России), переименованного на основании приказов Федерального медико-биологического агентства от 25.05.2020 №31у, от 23.04.2020 №24у в Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России) в 2008-2014 гг. и лаборатории безопасности лекарственных средств отдела доклинических исследований федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации в 2014-2022 гг.

В период подготовки диссертации к защите соискатель Сивак Константин Владимирович работал в ФГБУН ИТ ФМБА России в должности младшего, затем старшего научного сотрудника с 2006 по 2014 годы и в федеральном государственном бюджетном

Вх. № 3  
« 20 » июня 2022 г.  
ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России  
Диссертационный совет

учреждении «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации в должности заведующего лабораторией безопасности лекарственных средств с 2014 года и заведующего отделом доклинических исследований с 2016 года по настоящее время.

В 2004 году окончил Санкт-Петербургскую государственную химико-фармацевтическую академию (переименованную в Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет), фармацевтический факультет по специальности «Фармация», диплом провизора ВСБ 0626214. С 2004 по 2007 год проходил обучение в аспирантуре на кафедре фармакологии Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии и в 2007 году защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук в ФГБУН ИТ ФМБА России по специальности фармакология, клиническая фармакология, диплом кандидата биологических наук ДКН 047248 (решение ВАК от 18.01.2008 № 1к/1).

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор Саватеева-Любимова Татьяна Николаевна, федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория безопасности лекарственных средств, ведущий научный сотрудник.

**По итогам обсуждения принято следующее заключение:**

Диссертационная работа посвящена решению актуальной проблемы в области токсикологии, а именно экспериментальному обоснованию новых подходов к диагностике нефропатий токсического генеза и методов их фармакотерапии.

**Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.** Соискатель провёл анализ литературных данных по проблеме исследования, разработал дизайн исследований и принял непосредственное участие в выполнении экспериментальных работ, провёл обработку полученных результатов и представил результаты в научных публикациях и докладах на отечественных и зарубежных конференциях.

Соискателем разработан способ моделирования комбинированного воздействия обеднённым ураном. Изучена динамика экскреции ряда биомаркеров с мочой в различные сроки после острого отравления с использованием трёхточечного подхода, проведена оценка чувствительности и специфичности, прогностической значимости и отношения диагностических шансов. Проведена апробация метода электрофоретического разделения ряда белков мочи крыс с острым повреждением почек, вызванным отравлением лекарственным препаратом из класса аминогликозидов на самках и самцах крыс, с последующей масс-

спектрометрической идентификацией белков. Предложен способ фармакологической защиты почечной ткани для медикаментозного предупреждения и коррекции структурно-функциональных нарушений почечной паренхимы. Диагностическая ценность маркеров была проверена в клинических условиях на базе СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки». Проведено изучение эффективности натрия гидрокарбоната в составе раствора для перитонеального диализа, используемого для экспериментальной терапии острого отравления соединением урана. Исследовано влияние на выживаемость животных, показатели относительной ультрафильтрации, долю снижения уровня мочевины и перитонеального клиренса изотопа [ $^{238}\text{U}$ ]. Химический анализ проводили в ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России. Проведены исследования детоксицирующих свойств диметилксобутилфосфонилдиметилата и стандартной антидотной терапии при остром отравлении этиленгликолем. Исследована композиция экстрактов из лекарственного растительного сырья, обладающая ренопротекторными свойствами, на моделях цисплатин-индуцированной нефропатии и субхронического отравления этиленгликолем. Технология получения и стандартизация химического состава гранулята композиции экстрактов проведены на базе Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета.

Исследования проводились в рамках темы государственного задания «Экспериментальное обоснование и разработка методических подходов к оценке риска развития последствий острого и пролонгированного низкодозового воздействия на организм обеднённого урана», НИР шифр «Уран», № г/р 1201260976 от 16.05.2012 г. в ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России, протеомные и биохимические исследования проводились в ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, а фармакологические исследования – в сотрудничестве с СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки» и Санкт-Петербургским государственным химико-фармацевтическим университетом.

**Степень достоверности результатов проведенного исследования.** Достоверность результатов работы подтверждается проведением всех экспериментальных исследований на высоком методическом уровне. Положения, выносимые на защиту, а также выводы и практические рекомендации основаны на анализе большого массива фактического материала, представленного в таблицах, на рисунках диссертационной работы. Все полученные в ходе исследования экспериментальные данные были подвергнуты тщательному математическому преобразованию и статистическому анализу с использованием различных критериев описательной и аналитической статистики. Основные положения диссертации были представлены в докладах на 1 зарубежной и 18 отечественных научных конференциях, в том числе с международным участием.

**Научная новизна исследований.** Впервые предложен метод диагностики токсических нефропатий на основе кинетического подхода измерения уровня биомаркеров тканевого полипептидного антигена, липокалина-2, молекулы-1 повреждения почки, ретинол-связывающего белка-4, моноцитарного хемотаксического белка-1, трансформирующего ростового фактора бета-1 в моче. Установлена последовательность развития острого поражения почек на лабораторных животных с использованием кинетического подхода оценки экскреции биомаркеров. Доказана связь уровней тканевого полипептидного антигена и Kim-1 в моче с долей клеток почек, погибающих по механизму апоптоза и некроза при токсической нефропатии. Обоснована связь между уровнями биомаркеров и патоморфологическими изменениями в почках лабораторных животных. Впервые предложен способ повышения эффективности перитонеального диализа с использованием в составе диализирующего раствора гидрокарбоната натрия при остром отравлении соединениями урана, увеличивающего перитонеальный клиренс изотопа [ $^{238}\text{U}$ ] и выживаемость животных. Установлено, что диметилксобутилфосфонилдиметилат при введении в токсикогенную фазу острой интоксикации нефротоксином этиленгликолем в значительной степени предотвращает развитие метаболического ацидоза с высокой анионной разницей и снижает осмотический некроз нефротелиоцитов. Доказана нефропротекторная активность 15% раствора фумарата натрия при токсическом и ишемическом остром повреждении почек и растительных фитопрепаратов хофитол, нефрозолит, канефрон Н и композиции экстрактов золотарника, репешка и череды на экспериментальных моделях токсических нефропатий.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** В результате выполнения данного исследования экспериментально обоснован новый подход к диагностике нефропатий токсического генеза, способ ускорения выведения урана из организма посредством перитонеального диализа, коррекции диметилксобутилфосфонилдиметилатом метаболического ацидоза с высокой анионной разницей, ренопротекторной терапии фумаратом натрия и фитопрепаратами. Для научного обоснования впервые применены методы биоинформатического анализа в виде принципов поиска закономерности изменения уровня биомаркеров от времени и технологии расчетов. Было установлено, что в самом раннем периоде ОПГ токсического генеза свидетелем повреждения канальцев нефронов выступает ранее не идентифицированный как маркер нефротоксичности тканевой полипептидный антиген – фрагменты цитокератина 8/18,19, наряду с известным биомаркером липокалином-2. Их уровень в моче существенно превышает установленные пороговые величины, что имеет высокую прогностическую ценность. Оценена взаимосвязь уровней биомаркера фрагментов цитокератина 8/18,19 и Kim-1 в моче с долей клеток почек, погибающих по механизму апоптоза и некроза.

При изучении большого числа разнообразных нефротоксинов прямого типа действия выявлено не зависящее от пола нарушение концентрационной функции почек вследствие нарушения работы транспортных систем нефронов и микроциркуляторного русла.

На основании проведённых сравнительных исследований при токсических нефропатиях были отобраны гистоморфологические параметры оценки сосудисто-гломерулярного и тубулоинтерстициального компонентов повреждения нефронов для идентификации морфологического варианта ОПП. В работе показано превалирование тубулоинтерстициальных изменений и васкулопатий над гломерулярными на моделях токсических нефропатий.

Разработанный в настоящем исследовании трёхточечный кинетический подход измерения уровней биомаркеров может быть использован для диагностики токсической нефропатии. Использование такого подхода особенно важно для мониторинга состояния почек при острых экзогенных отравлениях, поскольку позволит выявлять доклинические и ранние клинические стадии, а также направление течения ОПП. По сравнению с уже известными методами диагностики токсических нефропатий (общим анализом мочи и определением азота мочевины и креатинина в крови) предложенный подход существенно отличается тем, что выявляет ранние фазы ОПП, демонстрирует большую чувствительность и специфичность, прогностическую значимость и опережает диагностику по росту сывороточного креатинина. Диагностическим критерием является превышение пороговой величины cut-off уровня показателей TPA, Kim-1, NGAL, RBP4, MCP-1 и TGF- $\beta$ 1 в моче в динамике. Сочетание методов химико-токсикологического, клиничко-лабораторного, инструментального и патоморфологического исследования позволит в полной мере устанавливать диагноз ОПП токсического генеза. Применение комплекса методов обеспечит значительный социально-экономический эффект в связи со снижением инвалидизации, обусловленной ранним началом специфической терапии. Использование разработанного подхода будет способствовать благоприятным микро- и макроэкономическим эффектам – совершенствованию технологий диагностики в здравоохранении и сокращению потерь от нетрудоспособности населения Российской Федерации. Предложенный в диссертационном исследовании подход диагностики нефропатий токсического генеза является универсальным и может быть распространён на ОПП в целом. Применение разработанного подхода в экспериментальной практике позволит оптимизировать поиск нефропротекторов для целенаправленной профилактики повреждения почек.

Для практического применения разработаны и опубликованы методические рекомендации для врачей ФМБА России МР № 12.29-15 «Оценка возможности развития последствий острого и пролонгированного воздействия ураном». Опубликована монография «Тепловая ишемия почки», посвящённая проблеме острой ишемии почек, патогенетически

схожей с нефропатиями токсического генеза. В работе показаны механизмы повреждения почек, дана характеристика биохимических маркеров ОПП и их изменений в условиях повреждения почек в экспериментах на кроликах и на клинических примерах, представлены результаты апробации биомаркеров Kim-1 и NGAL в мониторинге эффективности проводимой протекторной терапии. Произведена оценка эффективности применения препарата «Конфумин» в качестве средства фармакологической защиты при тепловой ишемии почки и доказано его ренопротекторное действие. Издано руководство «Доказательная фитотерапия. Руководство для врачей и провизоров», в котором отражены современные представления о месте фитотерапии в стандартах лечения наиболее широко распространённых заболеваний почек и мочевыводящих путей. В руководстве представлены экспериментальные доказательства применения лекарственных растений нефропротекторов.

**Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.** Основные результаты исследования представлены на конференциях и в рецензируемых изданиях. По материалам диссертационного исследования опубликовано 42 научные работы, из них 26 научных статей.

Наиболее значимые статьи в научных журналах и изданиях из перечня ВАК:

1. Сивак К.В. Биохимическая характеристика поражения почек при остром отравлении солями урана / Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н. // Медицина экстремальных ситуаций. 2010. № 4 (34). С. 96-104.
2. Сивак К.В. Ренопротекторная активность фумарат содержащего инфузионного раствора при ишемии-реперфузии почки / Попов С.В., Сивак К.В., Гусейнов Р.Г., Борисенко М.Б., Скрябин О.Н., Яблонский П.К., Виноградова Т.И., Мирзабеков М.М., Сулейманов М.М., Витовская М.Л., Щеголева Р.А., Заболотных Н.В. // Экспериментальная и клиническая урология. 2014. № 3. С. 14-18.
3. Сивак К.В. Нефропротекторная и антифибротическая активность композиции экстрактов из надземных частей *Agrimonia eupatoria* (Rosaceae), *Bidens tripartita* и *Solidago canadensis* (Asteraceae) при токсических нефропатиях / Сивак К.В., Лесиовская Е.Е., Ожигова М.С., Хаким Э.М., Новикова Е.К. // Растительные ресурсы. 2017. Т. 53. № 2. С. 265-283.
4. Сивак К.В. Методические подходы к раннему выявлению острого повреждения почек токсического генеза на основе динамики некоторых биомаркеров / Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н., Гуськова Т.А. // Токсикологический вестник. 2019. № 2 (155). С. 37-42.
5. Сивак К.В. Апробация метода электрофоретического разделения и идентификации некоторых белков мочи у крыс при токсической нефропатии / Сивак К.В., Забродская Я.А., Добровольская О.А. // Медицинский академический журнал. 2019. Т. 19. № 3. С. 71-82.

6. Сивак К.В. Коррекция нарушений кислотно-основного состояния у крыс при остром отравлении этиленгликолем / Сивак К.В., Любишин М.М., Калинина Е.Ю. // Медицинский академический журнал. 2019. Т. 19. № 4. С. 75-86.
7. Сивак К.В. Снижение нефротоксичности проведением перитонеального диализа с включением гидрокарбоната натрия при отравлении крыс уранил ацетатом дигидратом / Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н., Гуськова Т.А., Гусейнов Р.Г. // Токсикологический вестник. 2019. № 6 (159). С. 33-38.
8. Сивак К.В. Биологические маркеры и морфогенез острого почечного повреждения при отравлении крыс дихлорэтаном / Сивак К.В., Саватеева-Любимова Т.Н., Гуськова Т.А., Кульбицкий Г.Н., Александрова М.Л. // Токсикологический вестник. 2020. № 1 (160). С. 20-26.
9. Сивак К.В. Связь уровня цитокератинов СК8/18, 19 и КИМ-1 в моче с апоптозом и некрозом нефротелиоцитов у крыс при токсической нефропатии / Сивак К.В., Гусейнов Р.Г. // Медицинский академический журнал. 2020. Т. 20. № 2. С. 17-26.
10. Сивак К.В. Нефро- и гепатотоксические эффекты уранила ацетата при хроническом 18-недельном введении крысам / Сивак К.В., Стосман К.И., Саватеева-Любимова Т.Н. // Токсикологический вестник. 2021. № 2. С. 51-58.



#### Соответствие научной специальности

Диссертационная работа К.В. Сивака «Экспериментальное обоснование новых подходов к диагностике и фармакотерапии токсических нефропатий» полностью соответствует формуле специальности 3.3.4. Токсикология (направлениям токсикокинетика, токсикодинамика, избирательная токсичность, оказание первой помощи и лечение интоксикаций) и рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по указанной специальности.

Заключение принято на проблемной комиссии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России 18 мая 2022 года, протокол № 1/2022.

Присутствовало на заседании 19 человек. Результаты голосования: «за» – 19 чел., «против» – 0, «воздержался» – 0, протокол № 1/2022 от 18.05.2022 г.

Председатель проблемной комиссии  
ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»  
Минздрава России, доктор медицинских наук

Подпись   
Удостоверяю  
Нач. о.к.  БУРУХИНА О.Н.  
"06" 06 2022 года

  
Л.М. Цыбалова