

Отзыв на автореферат диссертации **Колядко Владимира Николаевича**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук, по теме: **«Механизмы избирательного ингибирования контактного пути свертывания крови каноническими ингибиторами»**

Работа Владимира Николаевича Колядко посвящена исследованию ингибиторов активного фактора Хагемана (фактора коагуляции XIIIa) и механизмов их специфичности. Фактор Хагемана был открыт около 60 лет назад, когда обнаружилось, что кровь мистера Хагемана не сворачивается в стеклянной пробирке. С тех пор появилось много биохимических данных о механизме контактной активации на поверхности чужеродных материалов, но до сих пор нет ясности, какую функцию этот фактор имеет в процессе коагуляции крови при нанесении внешних повреждений организму. Превращение фактора Хагемана в активный фермент происходит с задержкой по времени порядка $10^1 - 10^3$ сек при сорбции этого фактора из плазмы крови на поверхность с высокой поверхностной плотностью отрицательных зарядов. Это запускает реакции, в результате которых образуется сгусток – желеобразная субстанция, «каркас» которой состоит из матрикса фибриновых полимеров. В месте повреждения сосуда образование такого сгустка прекращает конвективный массоперенос веществ плазмы крови. Когда сгусток перекрывает просвет сосуда, резко пониженный транспорт веществ приводит к локальной ишемии ткани, что может угрожать необратимыми патологическими изменениями. При этом образование сгустка не в кровеносном сосуде, а в ране вызывается не фактором Хагемана, а особым мембранным белком тканевым фактором, запускающим свертывание по «внешнему» пути.

Почти 40 лет назад в кукурузе был найден белковый ингибитор трипсина, который, как считалось до недавнего времени, специфично ингибирует активность фактор Хагемана. Это обусловило широкое применение ингибитора из кукурузы в работах, исследовавших систему гемостаза; ингибитор фактора XIIIa используют, когда в изолированном объеме исследуют динамические характеристики процесса свертывания после добавления контролируемого количества экзогенного тканевого фактора. Если такой ингибитор не добавить в исследуемую плазму, то даже при нулевой концентрации экзогенного тканевого фактора в рекальцифицированной плазме образуется сгусток из-за контакта с поверхностью сосуда, в который помещена плазма. А при добавлении невысоких концентраций тканевого фактора будет практически невозможно различить вклады, вносимые в запуск свертывания тканевым фактором и фактором Хагемана. Поэтому создание новых ингибиторов фактора Хагемана и изучение их свойств является очень актуальной задачей для биофизики свертывания крови.

Работа Колядко В.Н. является актуальным исследованием, выполненным на очень высоком методическом и профессиональном уровне. Поставленные задачи выполнены с привлечением адекватных и современных методов исследования: для получения

ингибиторов автор использовал молекулярное клонирование генов, гетерологическую экспрессию и хроматографическую очистку белков; для изучения свойств ингибиторов – фотометрическое измерение амидолитической активности протеаз в смеси с ингибиторами; для изучения свертывания – флуориметрическое определение кинетики тромбина и фотометрическое определение появления фибрина в плазме. Основным результатом работы соискателя стало доказательство того, что созданные им варианты инфестина-4, ингибитора из пищеварительного тракта кровососущего насекомого, являются наиболее оптимальными ингибиторами фактора Хагемана (XIIa фактора), которые позволяют минимизировать ошибки при изучении свертывания от тканевого фактора. В целом, полученные результаты и выводы, сформулированные на их основе, обладают несомненной актуальностью, достоверностью, научной новизной и практической значимостью.

Автореферат написан хорошим научным языком, отражает все необходимые разделы диссертации. Результаты работы соискателя были апробированы на 4 конференциях и опубликованы в 5 статьях, в том числе в высокорейтинговых научных журналах. Тот факт, что по результатам работы получены патенты на новые ингибиторы и их применение, подтверждает высокую практическую значимость работы. Замечаний по автореферату диссертации не имею.

В заключение отмечу, что, исходя из автореферата, диссертационная работа Колядко В.Н. «Механизмы избирательного ингибирования контактного пути свертывания крови каноническими ингибиторами» является законченной научно-квалификационной работой, удовлетворяющей всем требованиям пунктов 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Считаю, что автор работы, Колядко Владимир Николаевич, заслуживает присвоения ему искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – «Биофизика».

Отзыв составил:

кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биологически активных наноструктур ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи»

Осидак Егор Олегович

Адрес: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

Тел.: +7(499)193-30-01

E-mail: egorosidak@gmail.com

«10» апрель 2017 г.

Собственноручную подпись Осидака Е.О. заверяю:

И.О. Начальник отдела кадров
Вера Сергеевна

