

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
Федерального медико-биологического агентства»
академик РАН, д.б.н., проф.
Говорун В.М.



«апрель» 2019 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России) о диссертационной работе **Жалялова Ансара Сайяровича** «Исследование пространственной динамики роста и лизиса фибринового сгустка в условиях тромболитической терапии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности биофизика – 03.01.02

Актуальность темы исследований

Диссертационная работа Жалялова А.С. посвящена исследованию пространственной динамики процессов свертывания и лизиса в условиях, моделирующих тромболитическую терапию (ТЛТ). Системы свертывания и фибринолиза регулируют образование и разрушение фибриновых сгустков в организме человека. Обе системы представлены каскадами биохимических реакций, с положительными и отрицательными петлями обратной связи. В результате работы системы свертывания, образуется фибриновый сгусток, закрывающий место повреждения. После того, как необходимость в сгустке

исчезает, включается система фибринолиза, отвечающая за его разрушение. Функционирование систем свертывания и лизиса, происходит в пространственно неоднородной среде – ферменты перемещаются в пространстве в связи с диффузией и течением крови, поэтому, при исследовании данных процессов важно учитывать пространственную компоненту. Тромболитическая терапия представляет собой введение медикаментозных препаратов (как правило, активаторов плазминогена) в кровеносное русло пациента с целью ускорения активации системы фибринолиза и растворения сгустка. Если причина образования сгустков не устранена, то возможна ситуация образования новых сгустков в период ТЛТ. Поэтому исследование процессов свертывания и лизиса сгустка (в частности, их пространственной динамики) в условиях ТЛТ является важной практической и научной задачей.

Основное содержание работы

Диссертация Жалялова А.С. состоит из введения, обзора литературы, постановки цели и задач исследования, материалов и методов, изложения собственных результатов, обсуждения, заключения, выводов, приложений, и списка цитируемой литературы (185 источников). Работа содержит 29 рисунков, 6 таблиц и представлена на 117 страницах.

В обзоре литературы (Глава 1) соискатель последовательно изложил и проанализировал современные представления о работе систем свертывания и фибринолиза, об их взаимосвязи и регуляции. Отдельный раздел обзора посвящен методам исследования системы фибринолиза, их преимуществам и недостаткам. На сегодняшний день, практически отсутствуют методы измерения параметров роста и лизиса сгустка, учитывающие пространственную компоненту процесса. Обзор заканчивается формулировкой проблем, которые возникают при исследовании процессов свертывания и фибринолиза.

При описании **материалов и методов** (Глава 2) соискатель подробно изложил методическую часть работы, связанную с подготовкой плазмы, измерением параметров роста и лизиса фибринового сгустка, указал наименования используемых препаратов, описал условия проведения экспериментов и процедуру обработки экспериментальных данных, а также схему компьютерного моделирования процессов роста и лизиса сгустка в условиях ТЛТ.

В Главе 3 приведены собственные **результаты** соискателя. Было показано, что пространственный лизис фибринового сгустка в присутствии тканевого активатора плазминогена (ТПА) в терапевтической концентрации начинается с области активации свертывания. Помимо этого, был исследован лизис в диапазоне концентраций ТПА от единиц до 800 нМ. Было обнаружено, что в зависимости от концентрации ТПА, лизис может происходить по 3-м основным сценариям – фронт лизиса, распространяющийся изнутри сгустка, фронт лизиса, распространяющийся от активирующей свертывание поверхности и, его частный случай, лизис, останавливающийся через несколько минут после старта. Соискателем убедительно показано, что время начала лизиса и его скорость определяются концентрацией ТПА. Также были описаны эксперименты в присутствии урокиназного активатора плазминогена и стрептокиназы. В разделах 3.6 и 3.7 описаны результаты компьютерного моделирования процессов свертывания и лизиса, а также сравнение с экспериментальными данными. Моделирование проводилось в одномерной области длиной 3 мм. Рост сгустка был инициирован тканевым фактором, расположенным в точке $x = 0$. Тромболитический препарат был равномерно распределен на всей области моделирования. Компьютерное моделирование показало высокую корреляцию параметров времени задержки и скорости волн свертывания и лизиса с экспериментальными данными. Отключение активации свободного плазминогена тканевым активатором в компьютерной модели устраняло

увеличение времени задержки и снижение скорости лизиса при высоких концентрациях ТПА. Кроме этого, в работе описаны эксперименты по исследованию зависимости скорости распространения волны лизиса, от скорости волны свертывания. Скорость свертывания изменялась при помощи добавления про- и антикоагулянтных препаратов. Автором показано, что скорость распространения фронта лизиса линейно зависит от скорости волны свертывания. В заключительном разделе описан эффект гиперактивации системы свертывания по всему объему плазмы при высоких концентрациях тромболитических препаратов, происходящий через активацию фактора IX плазмином. Данный эффект имеет важное практическое значение и может быть использован в разработке новых протоколов ТЛТ, лекарственных средств и стратегий их использования.

При **обсуждении** результатов (Глава 4) соискатель приводит анализ полученных результатов, сопоставляет данные *in vitro*, *ex vivo* и *in silico*, сравнивает собственные результаты с данными литературы и описывает перспективы использования и условия применимости результатов работы. Более того, заслуживает высокой оценки тот факт, что при обсуждении отмечены как преимущества проведенного исследования, так и его ограничения.

Достоверность, новизна и значимость результатов и выводов

Достоверность результатов, полученных в работе А.С.Жалялова, обеспечена использованием адекватных экспериментальных и теоретических подходов к исследованию пространственной динамики процессов свертывания и лизиса, большим объемом экспериментальных данных, сопоставлением данных, которые были получены соискателем различными экспериментальными и теоретическими методами, с известными данными из литературы.

Научная новизна заключается в построении экспериментальной реакционно-диффузионной системы для оценки параметров роста и лизиса

сгустка, моделирующей процессы, происходящие в период ТЛТ, и позволяющей наблюдать рост и лизис фибринового сгустка в реальном времени. Практическая ценность заключается в обнаружении явления распространения волны лизиса, отделяющей образующийся сгусток от области крепления, что может послужить базой для разработки новых методов устранения тромбов.

Полученные результаты являются новыми, приоритетными и оригинальными. Анализ результатов свидетельствует об их достоверности, научной новизне и практической значимости; научные положения и выводы, сформулированные в работе, убедительны и полностью обоснованы.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по работе не имеется. В работе встречаются стилистические погрешности, а также пунктуационные ошибки. Ниже приведены вопросы и пожелания, возникшие после ознакомления с работой:

- При описании метода Тромбодинамики было бы желательно сравнить его с методом тромбоэластографии, в котором также имеется возможность исследовать лизис сгустка.
- В описании структуры фибрина и фибриногена используется устаревшая номенклатура названий элементов молекул.
- Автор иногда использует различные сокращения одних и тех же препаратов (ТРА/ТПА, УРА/УПА), что может затруднять понимание текста.

Высказанные замечания и вопросы ни в коей мере не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы как квалификационного научного труда высокого уровня и не ставят под сомнение обоснованность ее основных положений и выводов.

Заключение


Диссертационная работа Жалялова А.С. выполнена по актуальной теме с привлечением широкого набора современных методов исследования. Полученные в работе результаты являются новыми и достоверными. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации, в нем отражены главные идеи исследования и представлены научные выводы. Результаты работы следует рекомендовать к использованию в организациях, занимающихся исследованиями в области биофизики, биохимии, гематологии и гемостазиологии.

Давая общую оценку диссертации А.С.Жалялова, можно заключить, что она представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение важной для развития биофизики и ряда смежных областей задачи по изучению пространственной динамики процессов свертывания и фибринолиза. Диссертационная работа А.С.Жалялова удовлетворяет требованиям, установленным пунктами 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, с изменениями Постановления Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 года, в редакции Постановления Правительства РФ № 748 от 02 августа 2016 года. По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 3 статьи в российских и международных журналах, входящих в перечень ВАК, и 5 тезисов докладов на конференциях различного уровня. Автор диссертации Жалялов Ансар Сайярович заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Настоящий отзыв обсужден и принят на научном семинаре сотрудников лаборатории геной инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-

биологического агентства». Присутствовало на заседании 10 человек.
Результаты голосования: «за» – 12 чел., «против» – нет, «воздержалось» –
нет, протокол № 3 от 24.04.2019

Составитель отзыва Лазарев Василий Николаевич, доктор
биологических наук, доцент, заведующий лабораторией геномной инженерии
ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России.


_____ (В.Н.Лазарев)

Адрес: Россия, Москва, 119435, Малая Пироговская, д. 1а, +7 (499) 255-2846
E-mail: lazar0@mail.ru

Подпись Лазарева В.Н заверяю.

Ученый секретарь ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России
к.б.н. Кострюкова Е.С.


_____ (Е.С. Кострюкова)
