

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.039.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 19.04.2017 г., протокол № 6

О присуждении Подоплеловой Надежде Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Взаимодействие факторов свертывания крови с субпопуляциями активированных тромбоцитов» по специальности 03.01.02 – биофизика принята к защите 15 февраля 2017 года, протокол № 4, диссертационным советом Д 002.039.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4; приказ Министерства образования и науки 105/нк от 11 апреля 2012 года.

Соискатель – Подоплелова Надежда Александровна, 1988 года рождения, в 2010 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Вятский государственный университет» по специальности «биотехнология». С 01 марта 2011 года по 28 февраля 2014 года обучалась в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук по специальности 03.01.02 – биофизика. В настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории клеточного гемостаза и тромбоза Национального научно-практического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярных механизмов гемостаза Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Центр

теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор физико-математических наук, **Пантелеев Михаил Александрович**, заведующий лабораторией молекулярных механизмов гемостаза Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Холмухамедов Эхсон Лукманович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории тканевой инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук;

Литвинов Рустем Игоревич, доктор медицинских наук, профессор кафедры биохимии и биотехнологии Института фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва) в своем положительном заключении, подписанном доктором биологических наук Бурячковской Людмилой Ивановной, ведущим научным сотрудником лаборатории клеточной адгезии и утвержденном заместителем генерального директора по научной работе, директором Института экспериментальной кардиологии, доктором медицинских наук, профессором Терещенко Сергеем Николаевичем, отмечает, что диссертация является актуальной и представляет несомненный интерес для понимания механизмов работы мембранно-зависимых реакций свертывания и для дальнейшей разработки новых лекарственных средств и методов диагностики. Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что впервые показано, что связанные с мембраной факторы X и Xa состоят из двух фракций одна из которых связана обратимо, другая – необратимо. В

экспериментах в проточных камерах автором показано, что подобное закрепление факторов на мембране тромбоцитов может препятствовать их вымыванию из тромбоцитарного тромба в условиях потока. Также автором показано, что факторы свертывания неравномерно распределены на мембранах фосфатидилсерин-положительных тромбоцитов. Наблюдается регион, в котором локальная концентрация факторов в несколько раз выше, чем на остальной мембране тромбоцита. При этом напрямую показано, что такая локализация факторов может приводить к ускорению мембранно-зависимых реакций свертывания до 50 раз.

Практическая значимость результатов диссертационной работы состоит в том, что получены важные данные, позволяющие лучше разобраться в механизмах мембранно-зависимых реакций свертывания крови. В частности, объясняются механизмы предотвращающие вымывание факторов из тромбоцитарных тромбов потоком, а также механизмы ускорения мембранно-зависимых реакций.

В заключение отмечено, диссертация Н.А. Подоплеловой представляет собой законченную научно-квалификационную работу и 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, а ее автор заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Соискатель имеет 16 научных работ, все по теме диссертации, из них 7 статей, опубликованных в рецензируемых российских и зарубежных научных периодических изданиях, входящих в перечень ВАК, и тезисы 9 докладов на российских и международных конференциях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Podoplelova, N.A. Coagulation factors bound to procoagulant platelets are concentrated in their cap structures to promote clotting / Podoplelova, N.A., Sveshnikova, A.N., Kotova, Y.N., Eckly, A., Receveur, N., Nechipurenko,

D.Y., Obydennyi, S.I., Kireev, I.I., Gachet, C., Ataulakhanov, F.I., Mangin, P.H., Panteleev, M.A. // Blood. – 2016. – Vol. 128. – № 13. – P. 1745-1755

2. Подоплелова Н.А. Регуляция мембранно-зависимых реакция свертывания крови / Подоплелова Н.А., Котова Я.Н., Липец Е.Н., Атауллаханов Ф.И., Пантелеев М.А. // Успехи физиологических наук. – 2015. – Т. 46. – №4. – С. 3-14.

3. Zakharova, N.V. Platelet surface-associated activation and secretion-mediated inhibition of coagulation factor XII. / Zakharova N.V., Artemenko E.O., Podoplelova N.A., Sveshnikova A.N., Demina I.A., Ataulakhanov F.I., Panteleev M.A. // PLoS One – 2015. – Vol.10. – №2, – P. e0116665

На автореферат поступило **4 положительных отзыва**: **1)** отзыв д.б.н., профессора **Муриной Марины Алексеевны**, главного научного сотрудника лаборатории физико-химических методов исследования и анализа Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства» содержит замечание о том, что в автореферате имеются технические погрешности, затрудняющие чтение, например, сокращение «ФХ» обозначает и фосфатидилхолин, и фактор X; **2)** отзыв д.м.н., профессора **Васильева Сергея Александровича**, ведущего научного сотрудника НКО ХТ с ДС, Федерального государственного бюджетного учреждения «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации без замечаний; **3)** отзыв к.б.н. **Животовой Веры Анатольевны**, научного сотрудника группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт Эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека без замечаний; **4)** отзыв к.б.н. **Дашкевич Натальи Михайловны**, ведущего научного сотрудника научного отдела ООО «Гемакор Лабс» без замечаний.

В отзывах отмечена актуальность и научная новизна диссертационной работы. Сильной стороной данного исследования является широкий круг использованных методов. В работе рассмотрены как фундаментальные вопросы мембранно-зависимых реакций свертывания крови, так и возможность практического

применения полученных результатов; автор достаточно корректно использует известные научные биофизические и биохимические методы для обоснования полученных результатов и выводов; опубликованные статьи достаточно полно отражают содержание работы, а также положения и результаты, выносимые на защиту. Приведенные в автореферате результаты и выводы обоснованы и достоверны.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оппоненты и сотрудники ведущей организации являются признанными специалистами в областях науки, касающихся биофизики, свертывания крови, мембранно-зависимых реакций, имеют высоко цитируемые публикации в данных сферах исследований, и способны оценить научную и практическую значимость диссертации. Оппонент – д.б.н., Холмухамедов Э.Л. является специалистом в области биофизики мембранно-зависимых реакций. Оппонент – д.м.н., Литвинов Р.И. имеет огромный опыт преподавательской и научно-практической работы и является ведущим специалистом в области свертывания крови. Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации является одним из ведущих институтов, в котором проводятся фундаментальные и прикладные научные исследования в области гематологии и свертывания крови.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана методология исследования взаимодействия и пространственного распределения факторов свертывания с субпопуляциями активированных тромбоцитов;

предложены оригинальные научные суждения, согласно которым мультимеризация факторов свертывания X и Xa при их связывании с фосфолипидной мембраной препятствует их вымыванию из тромбоцитарного тромба в условиях потока, благодаря тому, что мультимеры более плотно связаны с мембранами по сравнению с мономерами;

доказана двухступенчатая диссоциация факторов X и X_a с мембраны активированных тромбоцитов, обусловленная мультимеризацией факторов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения о взаимодействии факторов плазменного звена с мембраной тромбоцитов, вносящие вклад в понимание механизмов протекания мембранно-зависимых реакций свертывания крови;

применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс существующих базовых методов исследования, таких как проточная цитометрия, поверхностный плазмонный резонанс, а также конфокальная и электронная микроскопия;

изложены результаты, свидетельствующие о различиях в механизме закрепления на мембране факторов X и X_a: для фактора X – закрепление на фосфолипидной мембране происходит за счет его стабилизации, а для фактора X_a основную роль играет мультимеризация;

раскрыты механизмы, препятствующие вымыванию факторов свертывания из тромбов в условиях потока, которые включают многостадийное связывание факторов свертывания с мембраной активированных тромбоцитов, неравномерном распределении на ней, образование области повышенной локальной концентрации факторов, приводящей к значительному, до 50 раз, увеличению скорости мембранных реакций;

изучены процессы ассоциации и диссоциации факторов X и X_a с фосфолипидными везикулами и активированными тромбоцитами, измерены константы скорости этих реакций, определены константы равновесия и количество сайтов связывания;

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны научные основы взаимодействия факторов плазменного звена свертывания с тромбоцитами в процессе роста тромба;

определена структура участков мембраны прокоагулянтных тромбоцитов, в которых концентрируются факторы свертывания и которые характеризуются большим количеством складок мембран и органелл;

представлены результаты, которые могут быть использованы для создания новых клинических методов диагностики нарушений свертывания крови.

Оценка достоверности результатов выявила:

научные положения, выводы и результаты, сформулированные в диссертации, обоснованы экспериментальными данными, достоверны и получили признание в научной литературе и на различных конференциях; экспериментальная работа выполнена на высоком научном уровне, результаты получены на сертифицированном оборудовании с применением современных биофизических и биохимических методов исследования, стандартных методик обработки результатов; калибровки обоснованы; показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;

теория построена на известных, проверяемых данных по механизмам взаимодействия белковых факторов свертывания с фосфолипидными клеточными мембранами и опубликованных экспериментальных данных по теме диссертации;

идея базируется на анализе литературных данных в области изучения биофизических механизмов мембранно-зависимых реакций свертывания крови;

использованы авторские данные и данные, полученные ранее и опубликованные в литературе;

установлено, что полученные автором результаты согласуются с ранее опубликованными данными ведущих российских и зарубежных специалистов и не противоречат существующим представлениям о механизмах мембранно-зависимых реакций свертывания крови;

использованы современные методики сбора и обработки информации с обоснованием выбора объекта и методов исследования.

Личный вклад соискателя состоит в анализе литературных данных, планировании и проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных данных, представлении результатов на российских и международных конференциях, а также в подготовке научных публикаций по теме работы. Все

представленные в диссертации научные результаты были получены автором лично или при его непосредственном участии.

Диссертация Подоплеловой Н. А. «Взаимодействие факторов свертывания крови с субпопуляциями активированных тромбоцитов» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, удовлетворяющую всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в пунктах 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», в которой изучено взаимодействие факторов свертывания как с искусственными фосфолипидными везикулами, так и с активированными тромбоцитами с учетом их деления на субпопуляции, установлена пространственная неоднородность распределения факторов свертывания на мембранах активированных тромбоцитов, приводящая к увеличению до 50 раз скорости мембрано-зависимых реакций.

На заседании 19 апреля 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Подоплеловой Надежде Александровне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.02.01 – биофизика, участвовавших на заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени – 22, против присуждения учёной степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета, Д.Х.Н.

Ученый секретарь

диссертационного совета, К.Х.Н.

19 апреля 2017 г.



Трофимов А.В.

Мазалецкая Л.И.