



**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской  
академии наук  
(ЦТП ФХФ РАН)**

---

**«25» июня 2018 г. Москва, 119991, ул. Косыгина 4, т. 938-25-33  
исх. № 68**

**УТВЕРЖДАЮ**

**ВРИО Директора ЦТП ФХФ РАН,  
д.ф.-м.н., проф. РАН М.А.Пантелеев**



**ВЫПИСКА  
ИЗ ПРОТОКОЛА ЗАСЕДАНИЯ  
УЧЕНОГО СОВЕТА ЦТП ФХФ РАН**

**От "25" июня 2018 г. № 7**

**Председатель: д.ф.-м.н. Пантелеев Михаил Александрович  
Ученый секретарь совета: к.б.н. Кольцова Екатерина Михайловна**

**ПОВЕСТКА ДНЯ**

Обсуждение диссертационной работы Жалылова Ансара Сайяровича "Исследование пространственной динамики роста и лизиса фибринового сгустка в условиях тромболитической терапии" на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

### **ПРИСУТСТВОВАЛИ:**

Члены Ученого совета Центра в количестве 18 человек из 20, входящих в состав Ученого совета, а также научные сотрудники Центра.

- |     |                                |   |
|-----|--------------------------------|---|
| 1.  | Пантелеев Михаил Александрович | ВРИО директора, д.ф.-м.н.                 |
| 2.  | Кольцова Екатерина Михайловна  | Секретарь Ученого совета, к.б.н.          |
| 3.  | Атауллаханов Фазоил Иноятович  | В.н.с., член-корр. РАН, д.б.н., профессор |
| 4.  | Корсунская Ирина Марковна      | Зав.лаб., д.м.н., профессор               |
| 5.  | Наумов Юрий Иванович           | Гл.н.с., д.м.н., профессор                |
| 6.  | Пирузян Анастас Левонович      | Гл.н.с., д.м.н.,                          |
| 7.  | Турпаев Кирилл Тигранович      | Ст.н.с., д.б.н.,                          |
| 8.  | Николаевна Ирина Сергеевна     | Гл.н.с., д.м.н.,                          |
| 9.  | Радкевич Людмила Александровна | Гл.н.с., д.б.н., профессор                |
| 10. | Дворянкова Евгения Викторовна  | Вед.н.с., д.м.н.,                         |
| 11. | Ионов Илья Давидович           | Зав.лаб., д.м.н.,                         |
| 12. | Кабанкин Анатолий Сергеевич    | Гл.н.с., д.б.н.                           |
| 13. | Баландина Анна Николаевна      | Зам.дир. по науке, вед.н.с., к.б.н.       |
| 14. | Свешникова Анастасия Никитична | Зав.лаб., к.б.н.                          |
| 15. | Мартынов Михаил Вячеславович   | Вед.н.с., к.б.н.                          |
| 16. | Федянина Ольга Сергеевна       | Ст.н.с., к.б.н.                           |
| 17. | Котова Яна Николаевна          | Ст.н.с., к.б.н.                           |
| 18. | Шибeko Алексей Михайлович      | Вед.н.с., к.б.н.                          |

### **СЛУШАЛИ:**

Доклад по диссертационной работе Жалялова Ансара Сайяровича “Исследование пространственной динамики роста и лизиса фибринового сгустка в условиях тромболитической терапии” на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

#### Вопросы, заданные докладчику:

*К.б.н. Е.Н.Липец:* Вы рассказываете об исследовании влияния тканевого активатора плазминогена на пространственную динамику фибринолиза. Почему выбран именно данный активатор? Проводились ли вами исследования других активаторов плазминогена?

*А.С.Жалялов:* Действительно, основные исследования и расчеты были сделаны именно для тканевого активатора плазминогена, т.к. данный активатор является одним из наиболее распространенных тромболитических препаратов в клинической практике. Были также проведены исследования с урокиназным активатором плазминогена и стрептокиназой, эти результаты в презентацию не включены, но отражены в диссертации и автореферате.

*К.б.н. А.Н.Баландина:* На слайде об активации фактора IX вы показываете результаты эксперимента на дефицитной по данному фактору плазме. При восполнении фактора IX фибринолитические препараты начинают

активировать в ней свертывание. Вы делаете вывод, что активируется именно фактор IX, но ведь препараты могут активировать как фактор IX, так и факторы выше по каскаду свертывания и вы получите аналогичный результат. Почему вы делаете вывод именно в пользу девятого фактора?

*А.С.Жалялов:* Все верно, активация факторов выше по каскаду свертывания будет давать аналогичный результат. Для того, чтобы отсеять гипотезу об активации факторов выше IX были проведены эксперименты в плазме, дефицитной по фактору XI – в ней мы уже видим активацию свертывания тромболитическими препаратами, а это значит, что фибринолитиками активируется фактор, ниже одиннадцатого по каскаду, поэтому, сопоставляя данные эксперименты мы делаем вывод, что активируется именно фактор IX. Эксперименты с фактором XI включены в диссертацию.

*Д.м.н Е.И.Синауридзе:* пожелания по презентации: контрастировать рисунки и расшифровать подписи к сокращениям.

*А.С.Жалялов:* Спасибо за замечания, так и сделаю.

### **ВЫСТУПИЛИ:**

Рецензент к.б.н. Кольцова Е.М. сообщила, что работа выполнена на достойном методическом уровне, и по новизне и глубине исследования соответствует требованиям, предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Рецензент к.ф.-м.н. Нечипурнко Д.Ю. отметил, что диссертационная работа является законченным научным трудом и может быть представлена на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «биофизика».

Д.ф.-м.н. профессор РАН Пантелеев М.А. сообщил, что молодой специалист Жалялов Ансар Сайярович участвовал в международных и отечественных конференциях, имеет публикации в рецензируемых журналах и является перспективным молодым ученым. Жалялов А.С. полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к соискателям ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

**Открытым голосованием единогласно** принято решение рекомендовать кандидатуру Жалялова А.С. на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

### **ПОСТАНОВИЛИ:**

1. Утвердить Заключение ЦТП ФХФ РАН по диссертационной работе А.С.Жалялова (прилагается)

2. Рекомендовать работу Жалялова Ансара Сайяровича к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика на диссертационном совете Д 002.039.01 на базе Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии  
Российской академии наук  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.01.02 – биофизика.

Диссертация «Исследование пространственной динамики роста и лизиса фибринового сгустка в условиях тромболитической терапии» выполнена Жаляловым Ансаром Сайяровичем в лаборатории молекулярных механизмов гемостаза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук (ЦТП ФХФ РАН). В период подготовки диссертации соискатель Жалялов Ансар Сайярович проходил обучение в очной аспирантуре Российской академии наук с 01.04.2013 по 31.03.2017.

В 2013 г. окончил Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова по специальности «медицинская физика».

Удостоверение № 38 о сдаче кандидатских экзаменов «история и философия науки», «иностранный язык (английский)» и «биофизика» выдано 21.04.2015 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук.

**Научный руководитель:** Шибeko Алексей Михайлович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и биофизики клетки ЦТП ФХФ РАН.

По результатам рассмотрения диссертации «Исследование пространственной динамики роста и лизиса фибринового сгустка в условиях тромболитической терапии» принято следующее заключение:

## **Оценка выполненной работы**

Диссертация Жалялова А.С. является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований пространственной динамики фибринолиза разработаны положения, имеющие актуальное научное и практическое значение для биофизики и биохимии фибринолиза. Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

## **Актуальность темы**

Свертывание крови и фибринолиз являются взаимосвязанными системами, регулирующими образование и разрушение фибриновых сгустков в организме человека. Обе системы представлены каскадами реакций, с положительными и отрицательными петлями обратной связи. Система свертывания запускается контактом крови с тканевым фактором (TF), трансмембранным гликопротеином, присутствующим в области повреждения сосуда. Связывание с тканевого фактора с циркулирующим в плазме фактором VIIa, приводит к образованию комплекса, активирующего фактор X что в конечном итоге, приводит к образованию тромбина. Тромбин в свою очередь превращает белок фибриноген в фибрин, который полимеризуется и образует фибриновый сгусток, препятствующий кровопотере.

После того, как потребность в сгустке исчезает, в работу включается другая ферментативная система, отвечающая за разрушение сгустка – система фибринолиза. Каскад реакций фибринолиза может быть инициирован либо тканевым активатором плазминогена (ТРА), секретлируемым сосудистой стенкой, либо урокиназным активатором плазминогена (УРА). Важнейшим триггером и кофактором для работы системы фибринолиза является сам фибрин, который не только защищает плазмин от инактивации, но и на порядки ускоряет действие ТРА.

Тромболитическая терапия (ТЛТ) является медикаментозным способом устранения окклюзии кровеносных сосудов, заключающаяся в введении в кровотоки препаратов, активирующих систему фибринолиза. В общем случае, причина образования тромбов может не исчезнуть, и тогда, в период ТЛТ, могут образовываться новые тромбы, поэтому исследование процессов свертывания и лизиса в плазме в период ТЛТ является важной практической задачей.

Следует учитывать, что функционирование систем коагуляции и фибринолиза, происходит в пространственно неоднородной среде: ферменты, образованные в одном месте, транспортируются диффузией и течением крови в другое. Более того, сами процессы свертывания и лизиса пространственно неоднородны: сгустки должны формироваться и растворяться строго в месте повреждения. И это, вероятно, является решающим фактором в их регуляции: известно множество примеров того, что роли отдельных реакций изменяются в пространстве и времени или в присутствии потока. Исследования, проводившиеся на протяжении последних десятилетий, привели к значительному прогрессу представлений о роли пространственной компоненты в процессе свертывания крови, в то время как для фибринолиза данный вопрос остается открытым.

Целью настоящей работы являлось изучение процессов свертывания и лизиса в системе, моделирующей образование сгустка в период тромболитической терапии, учитывая пространственный аспект фибринолиза.

Была разработана пространственно-диффузионная экспериментальная модель, в которой свертывание запускалось иммобилизованным на поверхности тканевым фактором, а лизис запускался благодаря добавлению в плазму активаторов плазминогена. С помощью системы видеомикроскопии проводилось наблюдение за ростом и лизисом сгустка *in vitro*.

## **Научная новизна**

В рамках данной работы была построена экспериментальная реакционно-диффузионная система для оценки параметров роста и лизиса фибринового сгустка, моделирующая процессы в период ТЛТ, позволяющая наблюдать роста и лизис сгустка в реальном времени. Было обнаружено три основных типа волны лизиса – фронт лизиса, распространяющийся изнутри сгустка, фронт лизиса, распространяющийся от активизирующей поверхности и, его частный случай, лизис, останавливающийся через некоторое время. Тип волны лизиса сгустка зависит от концентрации фибринолитического агента в плазме и не зависит от типа активатора плазминогена (ТРА, УРА, СК). При терапевтических концентрациях ТРА волна лизиса начинается от поверхности на которой растет сгусток. При высоких концентрациях активаторов плазминогена экспериментально наблюдается явление замедления лизиса, вплоть до его остановки. С помощью компьютерного моделирования показано, что данное явление вызвано истощением свободного плазминогена. Скорость распространения фронта волны лизиса линейно зависит от скорости распространения фронта свертывания ( $r^2 = 0,91$ ). Экспериментально установлено, что при высоких концентрациях тромболитических препаратов в плазме происходит активация свертывания в результате реакции активации фактора IX плазмином.

## **Личное участие автора в получении результатов**

Все результаты, представленные в диссертационной работе, получены при личном участии автора: проведение экспериментов по исследованию пространственной динамики свертывания и лизиса, программирование алгоритмов, анализирующих изображения, полученных с экспериментальной системы «Тромбоимедж», подготовка и очистка факторов свертывания по исследованию активации фIX плазмином, анализ полученных результатов, а также написание научных статей, подготовка тезисов докладов и



представление результатов работ на научных конференциях выполнены лично соискателем.

### **Степень обоснованности и достоверности полученных результатов**

Для выполнения поставленных задач использовались методы видеомикроскопии и флуориметрии. Для оценки влияния различных концентраций тканевого активатора пламиногена на пространственную динамику фибринолиза использовался метод видеомикроскопии – современная система «Тromboimager», позволяющая исследовать пространственную динамику гемостаза в плазме крови. Для анализа эффекта активации фИХ плазмином использовался метод флуориметрии с использованием флуорогенного субстрата протеазы. Данный метод является широко используемым в биофизике и биохимии свертывания крови.

Научные положения, выводы, рекомендации полностью обоснованы, достоверны, вытекают из полученных результатов и получили признание в научной литературе и на различных конференциях.

### **Практическая значимость работы**

Разработанная *in vitro* методика оценки показателей пространственной динамики фибринолиза может быть использована в клинической практике для корректировки ТЛТ. Обнаруженное явление распространения волны лизиса, отделяющей образующийся сгусток от области крепления, может послужить базой для разработки новых методов устранения сгустков. Полученные результаты, свидетельствующие о снижении фибринолитической активности при высоких концентрациях ТРА, могут быть использованы при подборе дозировок препаратов. Открытый эффект активации фактора IX плазмином важно учитывать при разработке новых протоколов ТЛТ, лекарственных средств и стратегий их использования.

**Ценность научных работ соискателя, соответствие содержания диссертации специальности, полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

Работа соответствует специальности 03.01.02 – биофизика на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Материалы и основные результаты диссертации достаточно полно изложены в опубликованных работах Жалялова А.С., из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, и тезисы 5 докладов на российских и международных конференциях.

Диссертационная работа Жалялова А.С. удовлетворяет требованиям, установленным п.9 и п. 14 "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748).

**Апробация работы**

**Результаты работы представлены на следующих конференциях:**

1. Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам "Ломоносов-2012" (9-13 апреля 2012, Москва, Россия)
2. IV съезд биофизиков России. Физика в медицине и экологии (20 - 26 августа 2012, Нижний Новгород, Россия)
3. XXIV International Society on Thrombosis and Haemostasis Congress (29 июня – 4 июля 2013, Амстердам, Нидерланды)
4. 38th Federation of the European Biochemical Societies Congress (6 – 11 июля 2013, Санкт-Петербург, Россия)

### **Статьи в рецензируемых научных журналах:**

1. **Жалялов А.С.**, Пантелеев М.А. Экспериментальное исследование пространственной динамики фибринолиза *in vitro* в присутствии урокиназы и стрептокиназы. Ученые записки физического факультета. 2012. Т. 122702. № 2. С. 2–6.
2. **Жалялов А.С.**, Баландина А.Н., Купраш А.Д., Шривастава А., Шибек А.М. Современные представления о системе фибринолиза и методах диагностики ее нарушений. Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2017. Том: 16. Номер: 1. С: 69-82.
3. **Zhalyalov AS**, Panteleev MA, Gracheva MA, Ataulakhanov FI, Shibeko AM. Co-ordinated spatial propagation of blood plasma clotting and fibrinolytic fronts. PLoS One. 2017 Jul 7; 12(7).

### **Тезисы докладов:**

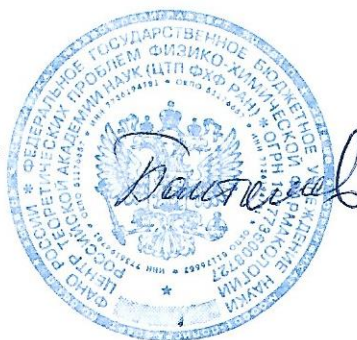
1. **Жалялов А.С.**, Экспериментальное исследование пространственной динамики лизиса фибринового сгустка *in vitro*. Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам "Ломоносов-2012". 2012. С. 132–134.
2. **Жалялов А.С.**, Атауллаханов Ф.И., Пантелеев М.А. Экспериментальное исследование пространственной динамики лизиса фибринового сгустка *in vitro*. Материалы докладов IV съезда биофизиков России. Физика в медицине и экологии. 2012. С.88.

3. **Zhalyalov A.**, Pantelev M., Ataulakhanov F., Shibeko A. Fibrinolysis wave propagation in a reaction-diffusive system. 38th FEBS Congress, St. Petersburg, 2013. SW 06, p 544.
4. **Zhalyalov A.**, Shibeko A., Pantelev M., Ataulakhanov F. Spatial clot lysis rate is regulated by clot growth rate, XXIV International Society on Thrombosis and Haemostasis Congress, Amsterdam, 2013, p 321.
5. **Zhalyalov A.**, Pantelev M., Ataulakhanov F., Shibeko A. Fibrinolysis wave as a possible cause of rethrombosis, XXIV International Society on Thrombosis and Haemostasis Congress, Amsterdam, 2013, p 342.

Диссертация «Исследование пространственной динамики роста и лизиса фибринового сгустка в условиях тромболитической терапии» Жалылова Ансара Сайяровича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Заключение принято на заседании Ученого совета ЦТП ФХФ РАН. На заседании присутствовали члены Ученого совета Центра в количестве 16 человек из 18, входящих в состав Ученого совета, а также научные сотрудники Центра. Заключение принято единогласно, протокол № 7 от 25 июня 2018 г.

Председатель Ученого Совета,  
д.ф-м.н., профессор РАН



Пантелеев М.А.

Ученый секретарь

Центра теоретических проблем  
физико-химической фармакологии РАН,  
кандидат биологических наук, к.б.н.

Кольцова Е.М.