

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

О соответствии диссертационной работы Обыденного Сергея Ивановича «Динамика и механизмы образования прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов» профилю диссертационного совета Д 002.039.01 и требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Комиссия в составе д.б.н., проф. Пальминой Надежды Павловны, д.х.н., проф. Шишкиной Людмилы Николаевны, д.б.н., проф. Зака Павла Павловича констатирует, что диссертационная работа «Динамика и механизмы образования прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов» по теме, постановке задач, методам и полученным результатам соответствует специальности 03.01.02 – биофизика, биологические науки.

Комиссия отмечает следующие научные результаты диссертационной работы и новизну:

В диссертационной работе производилось исследование прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов крови человека, ее морфологии и механизмов формирования.

Открыто существование субклеточной структуры прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов, названной «шапкой», в которой локализованы фибриноген, тканевая трансглутаминаза, фактор XIII, тромбоспондин. Показано, что прокоагулянтные тромбоциты включены в агрегаты с другими субпопуляциями через «шапку». Произведено морфологическое описание прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов при помощи конфокальной и просвечивающей электронной микроскопии.

Впервые установлена последовательность сигнальных процессов в активированных тромбоцитах при формировании прокоагулянтной субпопуляции: активация запускает осцилляции концентрации ионов кальция в цитоплазме, вызывающие повышение кальция в митохондриях, что способствует открытию митохондриальной поры в части тромбоцитов, потере потенциала мембраны митохондрии и экспозиции фосфатидилсерина на внешнюю сторону мембраны.

Выявлено два свойства индивидуального тромбоцита, влияющих на деление по субпопуляциям: количество митохондрий в клетке и концентрация ионов кальция в цитоплазме тромбоцита. Тромбоциты с меньшим числом митохондрий и более высоким кальцием чаще становятся прокоагулянтными.

Достоверность полученных результатов

Диссертационная работа Обыденного С.И. представляет собой цельное, широкое, хорошо структурированное научное исследование, выполненное на высоком экспериментальном и теоретическом уровне, с использованием современных методик, ранее апробированных в работах других исследователей.

Исследование проведено на современном высокоточном оборудовании. Измерение процессов внутриклеточной сигнализации производилось в одиночных иммобилизованных на подложке тромбоцитах при помощи одновременной видеомикроскопии флуоресцентных зондов, чувствительных к концентрации кальция, потенциалу митохондриальной мембраны и выходу фосфатидилсерина, на конфокальном микроскопе Zeiss Cell Observer Z.1 с диском Нипкова.

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

Практическая значимость работы

Феномен формирования тромбоцитами субпопуляций в ответ на активацию известен около 15 лет. В последние годы начали появляться исследования, показывающие связь прокоагулянтных тромбоцитов с патологическими ситуациями, такими как инфаркты и инсульты. Практическая значимость работы обусловлена тем, что сердечно-сосудистые заболевания являются лидирующей причиной смертности в мире по данным ВОЗ. Понимание механизмов формирования прокоагулянтных тромбоцитов и возможность влияния на распределение тромбоцитов по субпопуляциям позволяет разрабатывать новые способы лечения при возникновении патологических ситуаций.

Основные результаты исследования изложены в статьях автора, опубликованных в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Abaeva, A. A. Procoagulant platelets form an α -granule protein-covered “cap” on their surface that promotes their attachment to aggregates / A. A. Abaeva, M. Canault, Y. N. Kotova, S. I. Obydennyu, A. O. Yakimenko, N. A. Podoplelova, V. N. Kolyadko, H. Chambost, A. V. Mazurov, F. I. Ataulakhanov // *Journal of Biological Chemistry*. – 2013. – Т. 288, № 41. – С. 29621-29632.

2. Panteleev, M. Systems biology and systems pharmacology of thrombosis / M. Panteleev, A. Sveshnikova, A. Belyaev, D. Nechipurenko, I. Gudich, S. Obydenny, N. Dovlatova, S. Fox, E. Holmuhamedov // *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*. – 2014. – Т. 9, № 6. – С. 4-16.

3. Podoplelova, N. A. Coagulation factors bound to procoagulant platelets concentrate in cap structures to promote clotting / N. A. Podoplelova, A. N. Sveshnikova, Y. N. Kotova, A. Eckly, N. Receveur, D. Y. Nechipurenko, S. I. Obydennyi, I. I. Kireev, C. Gachet, F. I. Ataulakhanov, P. H. Mangin, M. Panteleev // *Blood*. – 2016. – Т. 128, № 13. – С. 1745-1755.

4. Obydennyu, S. I. Dynamics of calcium spiking, mitochondrial collapse and phosphatidylserine exposure in platelet subpopulations during activation / S. I. Obydennyu, A. N. Sveshnikova, F. I. Ataulakhanov, M. A. Panteleev // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2016. – Т. 14, № 9. – С. 1867-1881.

5. Пантелеев, М. Физиология и патология внеклеточных везикул / М. Пантелеев, А. Абаева, Д. Нечипуренко, С. Обыденный, А. Свешникова, А. Шибекко // *Онкогематология*. – 2017. – Т. 12. – № 1. – С. 62-70.

6. Пантелеев М., Абаева А., Баландина А., Беляев А., Нечипуренко Д., Обыденный С., Свешникова А., Шибекко А., Атауллаханов Ф. Внеклеточные везикулы плазмы крови: состав, происхождение, свойства // *Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии*. – 2017. – Т. 34. – № 3. – С. 155-161.

7. Свешникова, А. Современные представления о регуляции тромбоцитарного гемостаза / Свешникова А., Якушева А., Рябых А., Ушакова О., Абаева А., Обыденный С., Нечипуренко Д., Пантелеев М. // *Креативная кардиология*. – 2018. – Т. 12, № 3. – С. 260-274.

8. Nechipurenko, D. Y. Clot contraction drives the translocation of procoagulant platelets to thrombus surface / D. Y. Nechipurenko, N. Receveur, A. O. Yakimenko, T. O. Shepelyuk, A. A.

Yakusheva, R. R. Kerimov, S. I. Obydennyu, A. Eckly, C. Léon, C. Gachet // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2019. – Т. 39, № 1. – С. 37-47.

9. Kotova, Y. N. Binding of Coagulation Factor XIII Zymogen to Activated Platelet Subpopulations: Roles of Integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ and Fibrinogen / Y. N. Kotova, N. A. Podoplelova, S. I. Obydennyu, E. A. Kostanova, A. A. Ryabykh, A. S. Demyanova, M. I. Biriukova, M. A. Rosenfeld, A. V. Sokolov, Chambost H. // Thrombosis and haemostasis. – 2019.

10. Шахиджанов, С. Кальциевые осцилляции в тромбоцитах крови и их возможная роль в “интерпретации” клеткой информации из внешнего мира / С. Шахиджанов, Ф. Балабин, С. Обыденный, Ф. Атауллаханов, А. Свешникова // Успехи физических наук. – 2019. – Т. 189. – №. 9. – С. 703-719.

По результатам работы также опубликованы тезисы 19 докладов на российских и международных конференциях.

Публикации основных научных результатов диссертации соответствуют требованиям пунктов 11 и 13 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 01 октября 2018 г. № 1168).

Диссертация Обыденного Сергея Ивановича «Динамика и механизмы образования прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов» удовлетворяет требованиям п. 9, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, в ред. Постановления Правительства РФ от 01 октября 2018 г. № 1168).

На основании вышеизложенного, комиссия рекомендует Диссертационному совету Д 002.039.01 принять к защите диссертационную работу Обыденного С.И. «Динамика и механизмы образования прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Комиссия рекомендует утвердить в качестве официальных оппонентов:

- доктора биологических наук **Зинченко Валерия Петровича**, заведующего лабораторией внутриклеточной сигнализации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биофизики клетки РАН

- кандидата биологических наук **Горудко Ирину Владимировну**, ведущего научного сотрудника научно-исследовательской лаборатории биофизики и биотехнологии физического факультета Белорусского государственного университета

В качестве ведущей организации предлагается Федеральное государственное бюджетное учреждение "Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства"

Председатель комиссии:

д.б.н., проф.

Н.П. Пальмина

Члены комиссии:

д.х.н., проф.

Л.Н. Шишкина

д.б.н., проф.

П.П. Зак