

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.



«17» января 2020 г.

ОТЗЫВ

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 **Обыденного Сергея Ивановича «ДИНАМИКА И МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ ПРОКОАГУЛЯНТНОЙ СУБПОПУЛЯЦИИ ТРОМБОЦИТОВ»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности биофизика - 03.01.02.

Актуальность темы исследований

Диссертационная работа Обыденного С.И. посвящена изучению жизненного цикла тромбоцитов, являющихся элементами системы гемостаза, отвечающими за поддержание целостности кровеносной системы посредством образования тромбов. Непосредственным предметом исследования являются тонкие механизмы образования прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов.

Тромбоциты – безъядерные клетки с запрограммированным

жизненным циклом. При появлении факторов свертывания первоначально единое множество тромбоцитов разделяется на два, называемые субпопуляциями: непрокоагулянтные – прилипающие к стенкам сосудов, связывающиеся между собой и образующие фибриновые сгустки; и прокоагулянтные – катализирующие свертывание крови. Отклонения в выполнении этих программ проявляется в клинической практике как патологии: либо как трудноостановимые кровотечения, либо как чрезмерная свертываемость крови. Тема диссертационного исследования Обыденного С.И. актуальна и позволит совершенствовать клиническую практику по профилактике и лечению патологий гемостаза.

Основное содержание работы

Диссертация Обыденного С.И. включает 105 страниц, состоит из введения, обзора литературы, описания примененных методов, в том числе разработанных в процессе выполнения работы, обсуждения полученных результатов, выводов и заключения.

В **обзоре литературы** (Глава 1) соискатель последовательно рассмотрел и проанализировал современные представления о гемостазе и формировании субпопуляций тромбоцитов.

При описании **материалов и методов** (Глава 2) соискатель подробно изложил методическую часть работы. Непосредственно для целей исследования разработана методика по одновременному измерению внутриклеточного кальция, потенциала митохондриальной мембраны, митохондриального кальция и выхода фосфатидилсерина в активированных тромбоцитах.

В Главе 3 приведены собственные **результаты** соискателя. Было показано, что активация тромбоцитов тромбином и фактором PAR1-АП запускает в тромбоцитах колебания концентрации кальция между внутренней средой митохондрий и цитоплазмой (т.н. кальциевые осцилляции), в результате у некоторых тромбоцитов происходит повышение

цитоплазматического кальция и выход фосфатидилсерина (клетка переходит в прокоагулянтное состояние), а остальные клетки остаются непрокоагулянтными и с колеблющимся цитоплазматическим кальцием. Порог перехода индивидуален для каждой клетки. Кальциевый ответ тромбоцитов зависит от вида активатора и его концентрации. Выявлена последовательность внутриклеточных процессов, ведущих тромбоцит к смерти: активация тромбоцита запускает в нем кальциевые осцилляции, способствующие накоплению кальция в митохондриях, затем происходит коллапс митохондрий, повышается уровень внутриклеточного кальция, и следом происходит экспонирование фосфатидилсерина. Сделано заключение, что стабильно высокий уровень цитоплазматического кальция не является первичной причиной формирования прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов.

Соискателем представлены результаты измерений и сделано заключение, что количество митохондрий в тромбоците влияет на результат активации: чем меньше митохондрий, тем выше шансы у тромбоцита стать прокоагулянтным.

На материалах конфокальной микроскопии соискателем показано существование мембранной субклеточной структуры прокоагулянтных тромбоцитов, названной «шапкой» и представляющей из себя небольшую выпуклую область, содержащую остатки органелл и богатую прокоагулянтными белками, через которую происходит агрегация прокоагулянтных клеток с другими тромбоцитами.

При **обсуждении** результатов (Глава 4) соискатель приводит анализ полученных результатов и сопоставление их с известными представлениями и гипотезами.

Соискателем отмечено, что роль прокоагулянтных клеток в физиологических процессах до сих пор точно не определена, а на основании полученных данных предложена гипотеза о том, что такие (ФС+) клетки могут быть фактором, останавливающим рост тромба, прикрепившись к нему

«шапкой», при этом наружу оказывается выставлена поверхность, не способная к агрегации.

Достоверность, новизна, практическая и теоретическая значимость результатов и выводов

Достоверность результатов, полученных в работе С.И. Обыденного, обеспечена использованием современных экспериментальных и теоретических подходов к исследованию: конфокальная микроскопия с диском Нипкова и электронная микроскопия, а также планированием эксперимента, необходимой и достаточной статистической обработкой полученных результатов.

Результаты исследования являются новыми, что подтверждается публикациями диссертанта в профильных высокорейтинговых рецензируемых зарубежных журналах.

Полученные сведения о взаимодействии сигнальных процессов в тромбоцитах при формировании прокоагулянтной субпопуляции могут быть использованы в практических задачах, например, для поиска веществ, способных влиять на распределение тромбоцитов по субпопуляциям в ответ на активацию.

Открытие диссертантом «шапки» прокоагулянтных тромбоцитов, богатой альфа-гранулярными белками и участвующей в агрегации с другими тромбоцитами, позволяют сформулировать новые научные задачи для дальнейшего изучения прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов и их роли в тромбообразовании и гемостазе.

Таким образом, соискатель провёл добротную научно-исследовательскую работу по актуальной теме, результаты которой важны для дальнейших исследований системы гемостаза и могут найти применение в медицинской практике.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по работе не имеется. В работе встречаются стилистические погрешности, а также пунктуационные ошибки.

Собственно изложение достаточно сухо, но это не считается недостатком для научных текстов.

Отмеченные выше недостатки не снижают общего впечатления о работе как о квалифицированном научном труде высокого уровня. Содержание автореферата отражает основные идеи и выводы диссертации, а сама диссертация соответствует специальности 03.01.02 - биофизика.

Заключение

Диссертационная работа Обыденного С.И. 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, гематологии и гемостазиологии.

Давая общую оценку диссертации Обыденного С.И., можно заключить, что она представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержатся важные результаты для образования прокоагулянтной субпопуляции тромбоцитов в частности и понимания механизма тромбогенеза в целом.

Диссертационная работа Обыденного С.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.

По материалам диссертации опубликовано 29 научных работ, в том числе 4 – статьи в российских журналах, входящих в перечень ВАК, 6 – в международных высокорейтинговых журналах, и 19 – тезисы докладов на конференциях различного уровня в России и за рубежом. Автор диссертации Обыденный Сергей Иванович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Настоящий отзыв обсужден и принят на научном семинаре сотрудников лаборатории геномной инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства». Присутствовало на заседании 10 человек. Результаты голосования: «за» – 10 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 3 от 13 января 2020 г.

Составитель отзыва Лазарев Василий Николаевич, доктор биологических наук, доцент, заведующий отделом клеточной биологии, 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: lazarev@rcpcm.org

Подпись Лазарева В.Н. заверяю.

Ученый секретарь
ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России,
к.б.н.


_____ Е.С. Кострюкова