

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о соответствии диссертационной работы «Исследование механизмов регуляции активации тромбоцитов через рецепторы CLEC-2 и GPVI» Мартьянова Алексея Александровича профилю Диссертационного совета 24.1.038.01 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. Розенфельда Марка Александровича – констатирует, что диссертационная работа «Исследование механизмов регуляции активации тромбоцитов через рецепторы CLEC-2 и GPVI» по теме, постановке задач, методам исследования и полученным результатам соответствует специальности 1.5.2. Биофизика (биологические науки).

Комиссия отмечает следующие **основные научные результаты** диссертационной работы и её **новизну**:

Мартьяновым А.А. проведено экспериментальное и теоретическое исследование внутриклеточной тирозинкиназной сигнализации в тромбоцитах, инициируемой рецепторами CLEC-2 и GPVI.

Составлена полная схема внутриклеточной тирозинкиназной сигнализации в тромбоцитах при их активации через рецепторы CLEC-2 и GPVI. На основании данной схемы разработана первая математическая модель внутриклеточной тирозинкиназной сигнализации в тромбоцитах. Показано, что кластеризация рецепторов является одной из скорость-лимитирующих реакций для активации тирозинкиназной сигнализации в тромбоцитах. С помощью модели предсказано, что динамика кластеризации рецепторов может значительно влиять на активацию тромбоцитов. Данные результаты были подтверждены как на основе литературных данных, так и экспериментально.

Для исследования тирозинкиназной сигнализации в тромбоцитах был создан метод анализа динамики кальциевого ответа тромбоцитов на активацию с помощью проточной цитометрии. Данным методом впервые было показано, что CLEC-2 индуцирует кальциевый ответ в тромбоцитах.

Получено, что температура и насыщение мембраны холестерином значительно влияют на скорость активации тромбоцитов через рецептор CLEC-2. Это может свидетельствовать о значимости кластеризации рецепторов для тирозинкиназной сигнализации в тромбоцитах.

Показано, что ответы тромбоцитов здоровых доноров на GPVI-индуцированную активацию значительно различаются. Модель предсказала, что вариабельность ответов объясняется разными количествами рецепторов GPVI на поверхности тромбоцитов здоровых доноров, что сходится с данными из литературы.

Продемонстрировано, что у пациентов с КГЭ значительно нарушена активация тромбоцитов через рецептор CLEC-2. Можно предположить, что в опухолях этих пациентов происходит фильтрация тромбоцитов: тромбоциты с высокой экспрессией CLEC-2 остаются в опухоли, тромбоциты с низкой экспрессией CLEC-2 циркулируют в кровотоке. Модель также подтверждает такую возможность.

Степень достоверности полученных результатов.

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов обеспечивались использованием общепринятых современных методов, таких как проточная цитометрия, флуоресцентная микроскопия, вестерн блоттинга, статистическая обработка результатов, а также использованием распространенных методов математического моделирования и

статистической обработки данных, реализованных в общедоступных программных пакетах. Достоверность полученных результатов также подтверждается их согласованностью с известными литературными источниками.

Практическая и научная значимость результатов диссертационной работы.

Разработанная экспериментальная методика может быть использована для исследования внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах здоровых доноров и пациентов, что позволит идентифицировать механизмы развития нарушений функции тромбоцитов. Разработанная модель может быть использована для исследования механизмов развития гематологических заболеваний и исследования эффектов различных вариантов терапии на функцию тромбоцитов пациентов.

Полученные в рамках настоящей работы результаты подчёркивают значимость понимания механизмов и динамики процессов кластеризации для нормальной внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах. Разработанный теоретико-экспериментальный подход может быть использован для исследования широкого спектра биологических сигнальных систем как в тромбоцитах, так и в других клетках.

Основные результаты диссертационной работы изложены в 17 работах, в том числе 7 статей в международных и российских рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, 10 тезисов в сборниках трудов международных научных конференций.

Список основных печатных работ:

1. **Martyanov, A.A.** Control of Platelet CLEC-2-Mediated Activation by Receptor Clustering and Tyrosine Kinase Signaling / A.A. Martyanov, F.A. Balabin, J.L. Dunster, M.A. Pantelev, J.M. Gibbins, A.N. Sveshnikova // *Biophysical Journal*. – 2020. – Vol. 118 – № 11 – P. 2641–2655. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.04.023> (Scopus: 3.54; WOS: 3.854).
2. Garzon Dasgupta, A.K. Development of a Simple Kinetic Mathematical Model of Aggregation of Particles or Clustering of Receptors / A.K. Garzon Dasgupta, **A.A. Martyanov**, A.A. Filkova, M.A. Pantelev, A.N. Sveshnikova // *Life*. – Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2020. – Vol. 10 – № 6 – P. 97. DOI: <https://doi.org/10.3390/life10060097> (Scopus: 1.9; WOS: 3.817)
3. **Martyanov, A.A.** Heterogeneity of Integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ Function in Pediatric Immune Thrombocytopenia Revealed by Continuous Flow Cytometry Analysis / A.A. Martyanov, D.S. Morozova, M.A. Sorokina, A.A. Filkova, D.V. Fedorova, S.S. Uzueva, E.V. Suntsova, G.A. Novichkova, P.A. Zharkov, M.A. Pantelev, A.N. Sveshnikova // *International Journal of Molecular Sciences*. – Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2020. – Vol. 21 – № 9 – P. 3035. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21093035> (Scopus: 5.838; WOS: 4.556)
4. Степанян, М.Г. Активация тромбоцитов через рецептор GPVI: варибельность ответа / М.Г. Степанян, А.А. Филькова, Гарсон Дасгупта А.к., **А.А. Мартьянов**, А.Н. Свешникова // *Биологические Мембраны*. – 2020. – Т. 37 – № 6. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0233475520060079> (РИНЦ: 0.949)
5. **Мартьянов, А.А.** CLEC-2-индуцированная внутриклеточная сигнализация в тромбоцитах крови / А.А. Мартьянов, В.Н. Канева, М.А. Пантелеев, А.Н. Свешникова // *Биомедицинская химия*. – НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, 2018. – Т. 64 – № 5 – С. 387–396. DOI: <https://doi.org/10.18097/PBMC20186405387>. (РИНЦ: 0.27)
6. **Мартьянов, А.А.** Компьютерное моделирование внутриклеточной сигнализации при активации тромбоцитов крови фукоиданом / А.А. Мартьянов, Ф.А. Балабин, А.С. Майоров, Е.В. Шамова, М.А. Пантелеев, А.Н. Свешникова // *Биологические Мембраны*. – 2018. – Т. 35 – № 5. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0233475518040102> (РИНЦ: 0.949)

7. **Мартьянов, А.А.** Физиологические и патофизиологические аспекты активации тромбоцитов крови через рецептор CLEC-2 / А.А. Мартьянов, В.Н. Канева, М.А. Пантелеев, А.Н. Свешникова // Онкогематология. – 2018. – Т. 13 – № 3 – С. 83–90. DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2018-13-3-83-90> (РИНЦ: 0.585).

Публикации основных научных результатов диссертации соответствуют требованиям пунктов 11 и 13 «Положения о порядке присуждения ученых степеней (Утверждено постановлением Правительства России от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства России от 21.04.2016 г. № 335 в редакции Постановления Правительства России от 20.03.2021 г. № 426).

Диссертация не содержит заимствованных материалов и результатов без ссылок на авторов и источники заимствования. В диссертации даны ссылки на результаты работ, выполненные Мартьяновым А.А. в соавторстве с Свешниковой А.Н., Пантелеевым М.А., Новичковой Г.А., Жарковым П.А., Шамовой Е.В. и др.

Диссертация Мартьянова А.А. «Исследование механизмов регуляции активации тромбоцитов через рецепторы CLEC-2 и GPVI» отвечает требованиям, установленным пунктами 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Утверждено Постановлением Правительства России №842 от 24.09.2013 г., с изменениями Постановления Правительства России от 21.04.2016 г. №335 в редакции Постановления Правительства России от 20.03.2021 г. №426), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук.

На основании вышеизложенного комиссия рекомендует Диссертационному совету 24.1.038.01 принять к защите диссертационную работу Мартьянова А.А. «Исследование механизмов регуляции активации тромбоцитов через рецепторы CLEC-2 и GPVI» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 Биофизика.

Комиссия рекомендует утвердить в качестве **официальных оппонентов**:

доктора медицинских наук по специальности 14.01.05 Кардиология и специальности 03.01.04 Биохимия **Мазурова Алексея Владимировича**, профессора, главного научного сотрудника, и.о. руководителя лаборатории клеточной адгезии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

доктора биологических наук по специальности 1.5.2 Биофизика **Колесникова Станислава Сергеевича**, заведующего лабораторией молекулярной физиологии клетки, Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

в качестве **ведущей организации** предлагается Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства».

Председатель комиссии



Члены комиссии

