



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

«12» октября 2020 г. Москва, 109029, ул. Средняя Калитниковская 30,  
т. 8 (495) 678-31-16

исх. № 5/2-20(УС)

УТВЕРЖДАЮ  
Директор ЦТП ФХФ РАН,  
*Пантелеев* М.А. Пантелеев

«19» октября 2020 г.

М.П.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской  
академии наук

Диссертация «Биофизические механизмы нарушения свертывания при гемолитических анемиях и остром лимфобластном лейкозе» выполнена Серёгиной Еленой Александровной в лаборатории молекулярных механизмов клеточного гемостаза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук (ЦТП ФХФ РАН). В период подготовки диссертации Серёгина Елена Александровна проходила обучение в очной аспирантуре Российской академии наук с 03.10.2016 по 30.09.2020. Работает научным сотрудником в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева» МЗ РФ с 11 апреля 2013 года по настоящее время.

В 2009 г. окончила Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова по специальности «биохимическая физика».

Удостоверение № 5/18 о сдаче кандидатских экзаменов «история и философия науки», «иностранный язык (английский)» и «биофизика» выдано 15.05.2018 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук.

системной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ имени Д. Рогачева» МЗ РФ, научный руководитель ЦТП ФХФ РАН. Научный руководитель утвержден приказом № 49 ЦТП ФХФ РАН «03» октября 2016г. Тема диссертационной работы утверждена решением Ученого совета ЦТП ФХФ РАН от 22.12.2016 г., Протокол № 11.

По результатам рассмотрения диссертации «Биофизические механизмы нарушения свертывания при гемолитических анемиях и остром лимфобластном лейкозе» принято следующее заключение:

#### **Оценка выполненной работы**

Диссертация Серёгиной Е.А. является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании полученных автором результатов исследований разработаны положения, имеющие актуальное научное и практическое значение для биофизики и медицины. 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 – это многоэтапный процесс, который начинается в зоне поврежденного эндотелия, где протекают одни биохимические процессы, связанные с тканевым фактором, что запускает второй, автоволновой этап роста сгустка, где работают, в основном, реакции внутреннего пути свертывания, и, наконец, процесс роста прекращается в результате формирования на поврежденной поверхности тромба из фибрина и предельно активированных тромбоцитов. В ходе второго и третьего этапов огромную роль играют микровезикулы. Дело в том, что скорость-определяющими стадиями на этих двух этапах является образование прокоагулянтных комплексов активных факторов свертывания крови – X, IX и II, с их кофакторами и антикоагулянтного комплекса – протеина С с тромбомодулином, останавливающего распространением свертывания вне зоны повреждения. Для сборки всех этих комплексов необходимы фосфолипидные поверхности со специальным набором зарядов. Источником таких фосфолипидных поверхностей являются разные клетки. На сегодня известны все биохимические реакции системы свертывания крови и активность практически всех этих факторов может измеряться стандартными тестами, но все эти тесты далеки от биофизических особенностей системы. Взвешенную и чувствительную оценку всех стадий процесса дают только интегральные тесты гемостаза, в которых процесс свертывания *in vitro* практически имитирует все стадии процесса тромбообразования *in vivo*. Поэтому глобальные тесты гемостаза, такие как тромбоэластография (ТЭГ), тест генерации тромбина (ТГТ) и тромбодинамика (ТД), все чаще используются в клинической практике. Наиболее близко имитирует ситуацию *in vivo* ТД.

Существует группа патологий, объединенных единым симптомом - гемолизом эритроцитов. Эти заболевания получили общее название - гемолитические анемии. Со стороны системы гемостаза гемолитические анемии характеризуются состоянием гиперкоагуляции. Клиника этих заболеваний разнообразна у детей и взрослых, но их объединяет наличие высокого (около 30%) тромботического риска. Еще одним заболеванием, сопровождающимся состоянием гиперкоагуляции является острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ). Известно, что пациенты детского возраста с ОЛЛ имеют риск развития тромбоза до 73%. Однако до сих пор точные механизмы и молекулярные

причины повышенного тромботического риска у этих пациентов остаются недостаточно изученными, не найдено коагулологических тестов, которые могли бы адекватно оценить состояния системы гемостаза при этих патологиях. Возможно, именно образование патологического количества микровезикул при гемолизе является одним из механизмов усиления свертывания крови при гемолитических анемиях.

#### **Научная новизна**

1. Впервые показано, что в основе развития гиперкоагуляции у пациентов с гемолитическими анемиями лежит увеличение количества прокоагулянтных микровезикул, при этом их свойства значимо не отличаются от свойств микровезикул, выделенных из крови здоровых добровольцев.
2. Проведено систематическое сравнение показателей стандартной коагулограммы и интегральных показателей, а также клинической картины пациентов, в результате чего наиболее оптимальными признаны интегральные тесты, адекватно регистрирующие развитие гиперкоагуляции, в первую очередь, за счет скорости роста фибринового сгустка.
3. Разработан новый интегральный показатель для оценки риска реальных тромботических осложнений у детей с ОЛЛ, получающих терапию по протоколу ALL-MB-2015.

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

Все работы по получению микровезикул из образцов крови пациентов и добровольцев, работа на проточной цитометре и титровка образцов в ТД, а также эксперименты по исследованию и характеристике системы гемостаза у пациентов и здоровых добровольцев с использованием классических и интегральных тестов, статистическая обработка данных, написание статей и тезисов конференций по материалам диссертации проводились лично автором или при его непосредственном участии.

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

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов обеспечивались использованием общепринятых современных методов, таких как проточная цитометрия, стандартные тесты коагулограммы, иммуноферментный анализ, интегральные тесты гемостаза, статистическая обработка результатов. Использование аттестованных средств измерения позволило получить результаты с удовлетворительным уровнем точности. Достоверность полученных результатов также подтверждается их согласованностью с известными литературными источниками.

#### **Практическая значимость работы**

Тромботические осложнения, являясь одной из основных причин смерти при гемолитических анемиях, не поддаются детекции обычными методами пока они не переходят в жизнеугрожающие. В работе впервые показано, что интегральные тесты гемостаза чувствительны к развитию гиперкоагуляции у детей и у взрослых пациентов с гемолитическими анемиями, приводящими к клиническому тромбозу. Обнаружено, что гиперкоагуляция развивается еще в детском возрасте в моменты обострения заболевания и связана с резким увеличением концентрации микровезикул.

Тромбозы при ОЛЛ у детей являются серьезным осложнением, приводящим к задержке в лечении основного заболевания и ухудшению прогноза выздоровления. В работе впервые показано, что независимо от концентрации естественных антикоагулянтов, гиперкоагуляция, выявленная методом ТД по скорости распространения автоволны генерации фибрина, напрямую связана с развитием симптоматического тромбоза у пациентов детского возраста с ОЛЛ при условии одновременного нарушения лизиса фибринового сгустка (т.е. при отсутствии повышения маркера этого лизиса - Д-димера).

Возможность выявлять склонность к тромбозам по биофизическим характеристикам свертывания крови с помощью глобальных тестов гемостаза, позволяет широко применять эти методы как для проведения оценки состояния системы гемостаза у пациентов со склонностью к тромбообразованию, так и для изучения действия препаратов, воздействующих на свертывание крови.

**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 Серёгиной Е.А., из них 12 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, и тезисы 14 докладов на российских и международных конференциях.

Диссертационная работа Серёгиной Е.А. удовлетворяет требованиям, установленным п. 14 (об отсутствии заимствований без ссылок на источник и авторов) "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 г. № 1168).

**Апробация работы**

Основные результаты диссертационной работы были представлены на XXIV Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (Амстердам, Нидерланды, 29 июня - 04 июля 2013), II Российская научно-практическая конференция «Клинические и лабораторные аспекты современной гематологии» (Москва, Россия, 19 - 20 сентября 2013), XIX Всероссийская конференция с международным участием «Тромбозы, Кровоточивость, ДВС-синдром: современные подходы к диагностике и лечению» (Москва, Россия, 15 - 16 сентября 2014 года), 31<sup>st</sup> EHA-ESH Hematology Tutorial: Focus on Red Cells (plus Pediatric Coagulation) (Рим, Италия, 7 - 9 февраля 2014), VI Межрегиональное совещание НОДГО 4-7 (Москва, Россия, 4 - 7 июня 2015 года), XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (Торонто, Канада, 20 - 25 июня 2015), The 10th Congress of the International Society of Paediatric Oncology Asia (SIOP Asia) (Москва, Россия, 25 - 28 мая 2016), Объединенная VIII Всероссийская Конференция по клинической гемостазиологии и гемореологии и III Конгресс по противоречиям в области тромбозов и гемостаза (Москва, Россия, 20 – 22 октября 2016), VIII Межрегиональное совещание НОДГО (Москва, Россия, 25-28 мая 2017), XXVI Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (Берлин, Германия, 8 июля - 13 июля 2017), IX Всероссийская Конференция по клинической гемостазиологии и



гемореологии (Санкт-Петербург, Россия, 4-6 октября 2018), X Конгресс НОДГО (Сочи, Россия, 25-27 апреля 2019), XXVIII Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (виртуальный конгресс, 12 июля - 14 июля 2020).

**Статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК:**

1. Seregina E.A. Laboratory tests for coagulation system monitoring in a patient with beta-thalassemia / E.A. Seregina, O.F. Nikulina, N.V. Tsvetaeva, M.N. Rodionova, I.V. Gribkova, E.B. Orel, A.P. Zapariy, A.V. Erasov, A.N. Balandina, N.M. Ananyeva, F.I. Ataullakhanov // **International Journal of Hematology**. – 2014. - №99(5). - P.588-596.
2. Seregina E.A. Eculizumab effect on the hemostatic state in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria / E.A. Seregina, N.V. Tsvetaeva, O.F. Nikulina, A.P. Zapariy, A.V. Erasov, I.V. Gribkova, E.B. Orel, F.I. Ataullakhanov, A.N. Balandina // **Blood Cells Molecules and Diseases**. – 2015. - 54(2). - P.144-150.
3. Кумскова М.А. Диагностика тромбастении Гланцмана с помощью исследования показателей плазмного и тромбоцитарного звена гемостаза / М.А. Кумскова, И.А. Дёмина, А.Н. Баландина, Е.А. Серёгина, Е.В. Бондар, А.В. Полетаев, Н.И. Коняшина, М.А. Пантелеев // **Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии**. – 2015. – Том 14. - №4. - С. 17-24.
4. Жарков П.А. Применение метода «Тромбориск» для оценки гемостаза у детей с тромбозом глубоких вен / П.А. Жарков, А.В. Полетаев, М.А. Грачева, Е.А. Серёгина, А.В. Пшонкин // **Доктор.ру**. – 2016. - №5(122). - С. 48-51.
5. Sinauridze E.I. Moderate plasma dilution using artificial plasma expanders shifts the haemostatic balance to hypercoagulation / E.I. Sinauridze, A.S. Gorbatenko, E.A. Seregina, E.N. Lipets, F.I. Ataullakhanov // **Scientific Reports**. - 2017. - 7(1): 843. - С.1-12.
6. Фёдорова Д.В. Диагностика врожденных нарушений функций тромбоцитов: современное состояние вопроса / Д.В. Фёдорова, П.А. Жарков, С.А. Плясунова, Е.А. Серёгина, А.А. Игнатова // **Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии**. - 2017. – Том 16. - №1. - С. 83-95.
7. Кольцова Е.М. Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапий нарушений гемостаза у детей с острыми лейкозами. / Е.М. Кольцова, А.Н. Баландина, Е.А. Серёгина, А.В. Полетаев, Т.А. Вуймо, М.А. Пантелеев, Ф.И. Атауллахнов // **Российский журнал детской гематологии и онкологии**. - 2018. – Том 5. - № 4. - С. 74-85.
8. Koltsova E.M. The laboratory control of anticoagulant thromboprophylaxis during the early postpartum period after cesarean delivery / E.M. Koltsova, A.N. Balandina, K.I. Grischuk, M.A. Shpilyuk, E.A. Seregina, N.M. Dashkevich, A.V. Poletaev, A.V. Pyregov, G.T. Sukhih, I.I. Serebriyskiy, F.I. Ataullakhanov // **Journal of Perinatal Medicine**. – 2018. - 46(3). – P.251-260.
9. Федорова Д.В. Диагностика тромбоцитопатий у детей: корреляция исследования функциональной активности тромбоцитов с клинической картиной и результатами агрегометрии. / Д.В. Федорова, П.А. Жарков, А.А. Игнатова, А.Ю. Федотов, Д.М. Полохов, А.В. Полетаев, Е.А. Серёгина, А.В. Пшонкин // **Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии**. - 2018. – Том 17. - № 1. - С. 16-22.
10. Кольцова Е.М. Аспекты методологии лабораторных исследований гемостаза в детской гематологии-онкологии и общие подходы в патологии гемостаза при лейкозах / Е.М.

Кольцова, А.Н. Баландина, Е.А. Серёгина, А.В. Полетаев, Т.А. Вуймо, М.А. Пантелеев, Ф.И. Атауллаханов // **Российский журнал детской гематологии и онкологии.** - 2018. – Том 5. - №3. - С.74-88.

11. Seregina E.A., Poletaev AV, Bondar EV, Vuimo TA, Ataullakhanov FI, Smetanina NS. The hemostasis system in children with hereditary spherocytosis / E.A. Seregina, A.V. Poletaev, E.V. Bondar, T.A. Vuimo, F.I. Ataullakhanov // **Thrombosis Research.** – 2019. – 176. – P.11-17.
12. Polokhov D.M. Platelet function and blood coagulation system in childhood essential thrombocythemia. / D.M. Polokhov, N.M. Ershov, A.A. Ignatova, E.A. Ponomarenko, M.V. Gaskova, D.V. Fedorova, A.V. Poletaev, E.A. Seregina, G.A. Novichkova, N.S. Smetanina, M.A. Panteleev // **Plateletes.** – 2019. – 19. – P.1-11.

#### **Публикации в трудах конференций и съездов:**

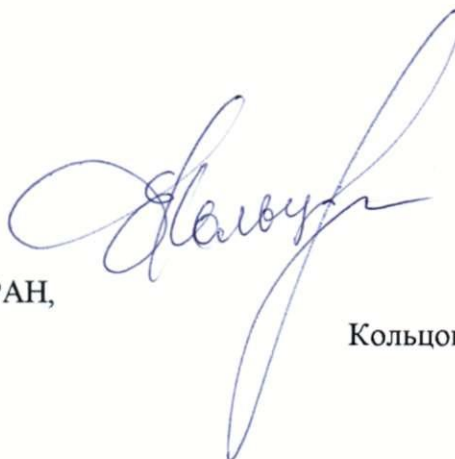
1. Seregina E.A., Nikulina O.F., Tsvetaeva N.V., Balandina A.N., Ataullakhanov F.I. Effect of eculizumab administrations on the haemostatic changes in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Abstracts of the XXIV Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (Амстердам, Нидерланды, 29 июня - 04 июля 2013), p. 836
2. Серёгина Е.А., Грачева М.А., Рохоева Д.П., Бабешко С.П., Баландина А.Н., Атауллаханов Ф.И. «Особенности интегральных тестов гемостаза у детей» II Российская научно-практическая конференция «Клинические и лабораторные аспекты современной гематологии» (Москва, Россия, 19 - 20 сентября 2013)
3. Серёгина Е.А., Никулина О.Ф., Цветаева Н.В., Баландина А.Н., Атауллаханов Ф.И. «Изменения гемостаза у пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией на фоне терапии экулизумабом» II Российская научно-практическая конференция «Клинические и лабораторные аспекты современной гематологии» (Москва, Россия, 19 - 20 сентября 2013)
4. Кумскова М.А., Серёгина Е.А., Грачева М.А., Коняшина Н.И., Баландина А.Н., Копылов К.Г.(2013) Клинический случай: Гемофилия, осложненная развитием ингибиторов к факторам VIII и IX. Материалы второй Российской научно-практической конференции «Клинические и лабораторные аспекты современной гематологии». Тема конференции: «Физиология и патология системы свертывания крови». Вестник последипломного медицинского образования. № 3. С.39 (Москва, Россия, 19 - 20 сентября 2013)
5. Серёгина Е.А., Кумскова М.А., Копылов К.Г., Сепоян А.М., Полетаев А.В., Сметанина Н.С., Атауллаханов Ф.И., Баландина А.Н. Показатели теста тромбодинамики у здоровых детей и взрослых. XIX Всероссийская конференция с международным участием «Тромбозы, Кровоточивость, ДВС-синдром: современные подходы к диагностике и лечению» (Москва, Россия, 15 - 16 сентября 2014 года)
6. М.А. Грачева, П.А. Жарков, А.В. Полетаев, Е.А. Серёгина, А.В. Пшонкин, Е.В. Бондар, Ф.И. Аталлуханов. Маркеры гиперкоагуляции у детей с тромбозом глубоких вен на фоне лечения злокачественного заболевания. Материалы VI Межрегионального совещания НОДГО (Москва, Россия, 4 - 7 июня 2015 года), стр. 36
7. E.A. Seregina, L.I. Zharikova, M.A. Gracheva, N.M. Trubina, H.M. Sepoyan, A.V. Poletaev, T.A. Vuimo, F.I. Ataullakhanov. Haemostasis in children with acute lymphoblastic leukemia.

- Abstracts of the 10th Congress of the Inter-national Society of Paediatric Oncology Asia (SIOP Asia) (Москва, Россия, 25 - 28 мая 2016), p. 20
8. Серёгина Е.А., Жарикова Л.И., Грачева М.А., Трубина Н.М., Полетаев А.В., Вуймо Т.А., Атауллаханов Ф.И. Исследование системы гемостаза у детей с острым лимфобластным лейкозом. Материалы Объединенной VIII Всероссийской Конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии и III Конгресса по противоречиям в области тромбозов и гемостаза в журнале Тромбоз, Гемостаз и Реология (Москва, Россия, 20 – 22 октября 2016), стр. 374-375
  9. Серёгина Е.А., Грачева М.А., Полетаев А.В., Вуймо Т.А., Атауллаханов Ф.И. Показатели тромбодинамики у здоровых детей и взрослых. Материалы Объединенной VIII Всероссийской Конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии и III Конгресса по противоречиям в области тромбозов и гемостаза в журнале Тромбоз, Гемостаз и Реология (Москва, Россия, 20 – 22 октября 2016), стр. 374
  10. Koltsova E., Balandina A., Grischuk K., Tambovtseva M., Seregina E., Poletaev A., Pyregov A., Sukhih G., Serebriyskiy I., Ataulakhanov F. Laboratory control of anticoagulant thromboprophylaxis during early postpartum period after the caesarean delivery. Материалы Объединенной VIII Всероссийской Конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии и III Конгресса по противоречиям в области тромбозов и гемостаза в журнале Тромбоз, Гемостаз и Реология (Москва, Россия, 20 – 22 октября 2016), стр. 24-25
  11. E.A. Seregina, L.I. Zharikova, M.A. Gracheva, N.M. Trubina, M.N. Korsantya, H.M. Sepoyan, D.P. Rokhoeva, A.V. Poletaev, T.A. Vuimo, F.I. Ataulakhanov. Haemostasis in children with acute lymphoblastic leukemia. Abstracts of the XXVI Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (Берлин, Германия, 8 июля - 13 июля 2017), p. 574
  12. Серёгина Е.А., Жарикова Л.И., Корсантия М.Н., Полетаев А.В., Атауллаханов Ф.И. "Развитие тромботических осложнений и тесты гемостаза у пациентов с острым лимфобластным лейкозом". Материалы IX Всероссийской Конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии (Санкт-Петербург, Россия, 4-6 октября 2018) стр. 242
  13. Полетаев А., Серёгина Е., Жарков П., Карамян Н., Плясунова С. "Опыт использования нового метода мульти-мерного анализа фактора фон Виллебранда в диагностике болезни Виллебранда: опыт использования". Материалы IX Всероссийской Конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии (Санкт-Петербург, Россия, 4-6 октября 2018) стр. 206
  14. Серёгина Е.А., Жарикова Л.И., Полетаев А.В., Грачева М.А., Трубина Н.М., Корсантия М.Н., Вуймо Т.А., Атауллаханов Ф.И. Гиперкоагуляция у детей с острым лимфобластным лейкозом. Материалы Десятого конгресса НОДГО "Актуальные проблемы и перспективы развития детской гематологии-онкологии в Российской Федерации" (Сочи, Россия, 25-27 апреля 2019) в журнале Российский журнал детской гематологии и онкологии. 2019. Т.6. № S1. стр. 6

Диссертация «Биофизические механизмы нарушения свертывания при гемолитических анемиях и остром лимфобластном лейкозе» Серёгиной Елены Александровны 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 14 человек из 18, входящих в состав Ученого совета, а также научные сотрудники Центра. Заключение принято единогласно, протокол № 5 от 12 октября 2020 г.

Ученый секретарь  
Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Центра теоретических проблем  
физико-химической фармакологии РАН,  
к.б.н.



Кольцова Е.М.