

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы

Мартьянова Алексея Александровича

«Исследование механизмов регуляции активации тромбоцитов через рецепторы CLEC-2 и GPVI», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика

Диссертационное исследование Мартьянова А.А. посвящено внутриклеточной сигнализации тромбоцитов человека. Тромбоциты – безъядерные клетки крови, ключевой задачей которых является поддержание целостности кровеносной системы, а также остановка кровотечения при повреждениях стенок кровеносных сосудов. Нарушения нормального функционирования системы тромбоцитарного гемостаза могут становиться причиной как кровотечений, так и тромбозов.

Активация внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах происходит через рецепторы, ассоциированные с G-белками или через рецепторы, запускающие тирозинкиназную сигнализацию. В работе Мартьянова А.А. проводится теоретическое и экспериментальное исследование рецепторов CLEC-2 и GPVI, запускающих тирозинкиназную сигнализацию. Рецептор GPVI тромбоцитов активируется коллагеном – белком межклеточного матрикса эндотелия кровеносных сосудов, обнажающегося при повреждении кровеносного сосуда. Значимость GPVI для нормального функционирования тромбоцитов была многократно продемонстрирована и *in vitro*, и *in vivo*, в то время как рецептор CLEC-2 был открыт сравнительно недавно. CLEC-2 и его эндогенный лиганд подоплатин необходимы для корректного разделения кровеносной и лимфатической систем при эмбриональном развитии организма, а также для предотвращения смешения крови и лимфы у взрослых. Также существуют сведения, что CLEC-2 и GPVI совместно необходимы для поддержания прочности тромбоцитарных агрегатов и для предотвращения кровотечений при выходе иммунных клеток из кровотока в ткани.

CLEC-2 и GPVI инициируют сложный каскад фосфорилирования внутриклеточных сигнальных ферментов, который приводит к инициации кальциевой сигнализации, запускающей последующие функциональные ответы. Для определения управляющих механизмов в данной системе автор разработал первую теоретическую модель активации тромбоцита через рецептор CLEC-2, из которой с помощью модификаций была получена модель GPVI-индуцированной активации тромбоцитов. Особенностью данных моделей стал непосредственный учёт кластеризации рецепторов на мембране тромбоцитов, основанный на значительно упрощённом подходе, позволяющим значительно снизить вычислительную сложность. Благодаря учёту кластеризации, автор смог теоретически оценить влияние данного процесса на активацию тромбоцитов и сделать вывод, что модуляция процесса кластеризации рецепторов может замедлить активацию тромбоцитов через данные сигнальные пути более чем на 200 секунд. При экспериментальном исследовании данных предсказаний было также получено, что активация тромбоцитов через рецептор CLEC-2 значительно зависит от температуры и от насыщения мембраны тромбоцитов холестерином, что ещё раз подчёркивает значимость кластеризации рецепторов для нормальной сигнализации.

В то время как автор подробно рассматривает рецепторы CLEC-2 и GPVI, к сожалению, вниманием оказался обделён рецептор FcγRIIA, также инициирующий кальциевую сигнализацию в тромбоцитах. Сигнальный каскад данного рецептора практически полностью повторяет сигнальный каскад рецептора GPVI, так что дополнение моделей моделью FcγRIIA не представляется мне достаточно трудоёмкой и, одновременно, позволило бы усилить настоящую работу.


С помощью разработанной модели рецептора CLEC-2 автор также исследует редкое заболевание – капошиформную гемангиоэндотелиому (КГЭ), а также её

осложнение – синдром Казабаха-Мерритт (СКМ). КГЭ – редкая агрессивная опухоль, встречающаяся у детей до 36 месяцев, происходящая из клеток сосудистого эндотелия. Одной из характерных черт КГЭ является экспрессия клетками данной опухоли подоплатина – одного из агонистов тромбоцитарного рецептора CLEC-2. Тромбоциты взаимодействуют с подоплатином опухоли через свой CLEC-2, активируются и секретируют содержимое своих гранул, в которых находится большое количество различных факторов роста. Это приводит к росту и пролиферации опухоли. Мартьяновым А.А. проведено исследование 8 пациентов с КГЭ и получено, что у этих пациентов наблюдается нарушение CLEC-2 индуцированной сигнализации в тромбоцитах. Согласно предсказаниям теоретической модели, автор делает вывод, что на поверхности тромбоцитов пациентов с КГЭ наблюдается снижение количества самих рецепторов CLEC-2. Данный результат в дальнейшем может быть использован для подбора терапии КГЭ, направленной непосредственно на рецептор CLEC-2. В качестве незначительного недостатка данной части исследования может быть выделен тот факт, что в работу включено всего 5 здоровых контролей, однако также важно подчеркнуть, что, так как КГЭ чаще всего встречается у детей до 36 месяцев, то подбор здоровой контрольной группы, подходящей по возрасту, оказывается значительно затруднён.


Основные положения диссертационной работы опубликованы в печатных изданиях, состоящих в списке журналов, рекомендованных ВАК РФ, а также входящих в базы цитирований Web of Science и Scopus, и обсуждались на научных форумах международного и российского уровня.

По совокупности сведений, приведенных в автореферате, можно заключить, что данное исследование отвечает требованиям пп. 9 и 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (утверждено Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.; в редакции Постановления Правительства РФ №1539 от 11.09.2021 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор А.А. Мартьянов заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Кандидат физико-математических наук,  
Ведущий научный сотрудник  
лаборатории биофизики  
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России

 Софья Алексеевна Кузнецова  
17/11/2022

Подпись Софьи Алексеевны Кузнецовой удостоверяю.  
Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России  
Доктор медицинских наук, профессор

 Е. А. Спиридонова

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр  
детской гематологии, онкологии и иммунологии имени  
Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
117997, г.Москва, ул. Саморы Машела д.1  
Тел.(495) 937-50-24, [www.fnkc.ru](http://www.fnkc.ru)  
e-mail: [info@fnkc.ru](mailto:info@fnkc.ru)

