

## Отзыв

### официального оппонента

**на диссертационную работу Серёгиной Елены Александровны «Биофизические механизмы нарушения свертывания при гемолитических анемиях и остром лимфобластном лейкозе», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика**

Одной из важнейших фундаментальных задач современной медицины, биофизики и биохимии является исследование функций и законов системы свертывания крови. Актуальной и нерешенной проблемой является отсутствие предсказательной диагностической возможности и полного понимания механизмов патологических состояний гемостаза, таких как спонтанный тромбоз, кровоточивость или инфаркт и т.д. Также существует ряд заболеваний, при течении и терапии которых происходит нарушения в системе свертывания. В детской популяции особенно тромбогенными являются такие состояния как гемолитические анемии и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ). Коррекция гемостаза этих состояний также сложна из-за биофизических особенностей системы свертывания: помимо сложных биохимических реакций, в которых задействовано множество белков, а также клетки крови и эндотелия сосудов, существует биофизическая стороны процесса свертывания. Стоит отметить, что основные реакции гемостаза протекают на отрицательно заряженных фосфолипидных мембранах, в отсутствие которых активность процесса свертывания значительно замедляется. «In vivo» эти мембраны предоставляют в основном тромбоциты, однако, в кровотоке циркулирует большое количество прокоагулянтных микровезикул различного происхождения, которые также принимают непосредственное участие в процессе свертывания и сборке комплексов факторов. Таким образом, цель рецензируемой диссертации представляется чрезвычайно важной: разобраться как в механизмах развития гиперкоагуляции при гемолитических анемиях и ОЛЛ, так и разработать интегральные панели оценки состояния гемостаза, имеющих предикторную силу при этих патологиях. Именно этому посвящена диссертационная работа Серёгиной Елены Александровны.

Диссертационная работа объемом 146 страниц состоит из введения, трех основных глав, посвященных обзору литературы, материалам и методам исследования, а также результатам, заключения, выводов, списка цитированной литературы из 172 источников, а также списка сокращений и обозначений и благодарностей.

Во введении в достаточной мере убедительно обоснована актуальность изучения механизмов развития гиперкоагуляции при гемолитических анемиях, а также исследования состояния гемостаза у детей с ОЛЛ. Здесь же охарактеризована научная новизна, практическая и теоретическая значимость полученных результатов и личный вклад автора.

В обзоре литературы подробно изложены современные представления о свертывании крови, проанализирована информация об угрозах тромботических осложнений при гемолитических анемиях и ОЛЛ, которые в ряде случаев не только ухудшают прогноз выздоровления, но могут привести к летальному исходу.

На основании проведенного анализа литературы была поставлена цель работы: исследовать изменения системы свертывания крови у пациентов с гемолитическими анемиями, а также у пациентов с ОЛЛ; изучить механизмов влияния микровезикул на развитие гиперкоагуляции у пациентов с гемолитическими анемиями на модели пространственной динамики роста сгустка.

Для достижения указанной цели поставлены следующие задачи:

1. Исследовать характеристики и общее состояние системы свертывания крови у пациентов с гемолитическими анемиями, используя максимально полный набор современных методов.
2. Сравнить концентрации микровезикул у пациентов с гемолитической анемией и у здоровых доноров методом проточной цитометрии и оценить вклад микровезикул в гиперкоагуляцию, наблюдаемую у пациентов с гемолитическими анемиями.
3. Оценить, есть ли качественные различия в прокоагулянтных свойствах микровезикул у пациентов с гемолитической анемией и у здоровых доноров.
4. Исследовать изменения гемостаза и пространственной динамики роста сгустка у пациентов детского возраста с ОЛЛ на фоне специфической терапии.
5. Разработать интегральный показатель, позволяющий прогнозировать вероятность тромботических осложнений у пациентов с ОЛЛ и с гемолитическими анемиями.

В главе 2, посвященной материалам и методам, приведены методы выделения прокоагулянтных микровезикул из цельной крови, и оценки их количественных и качественных характеристик методами проточной цитометрии и тромбодинамики. В главе изложены методы интегральной и стандартной оценки системы гемостаза.

В главе 3 описаны основные результаты, полученные автором. Одним из важных результатов данной работы является то, что автором определена корреляция между тяжестью состояния пациента с гемолитической анемией, количеством прокоагулянтных микровезикул и риском развития тромботических осложнений. Показано, что одним из основных механизмов развития гиперкоагуляции при гемолитических анемиях является повышение концентрации прокоагулянтных микровезикул. Автором впервые разработана панель для оценки риска тромбозов у детей с ОЛЛ, включающая интегральную оценку свертывания крови с помощью тромбодинамики, а также концентрацию естественного антикоагулянта антитромбина III и концентрацию маркера лизиса фибринового сгустка D-димера. В рамках изучения механизмов развития тромбоза, авторами сделано предположение, что эндотелиальная дисфункция,



подтвержденная лавинообразным повышением свободного тромбомодулина в крови в день тромбоза, играет значительную роль в развитии тромбозов у пациентов с ОЛЛ.

Надежность, достоверность и ценность полученных результатов не вызывает сомнений, а объем выполненных исследований может быть охарактеризован как значительный.

При прочтении диссертации возникает ряд замечаний и вопросов. Недостаточно внимания уделено описанию известных данных присутствия фосфатидилсерина на микровезикулах, как маркера прокоагулянтной поверхности. В материалах и методах упомянуто, что стандартные тесты свертывания крови имеют ограничения и малочувствительны к процессам гемостаза *in vivo*, однако нет подробного описания их применения или невозможности их оценки при состоянии гиперкоагуляции. Также обращают на себя внимания мелкие стилистические и пунктуационные огрехи. Тем не менее, указанные замечания не имеют принципиальный характер и не уменьшают значимость работы.

По материалам диссертации опубликовано 27 научных работ: оригинальные статьи в отечественных и международных журналах, рекомендованных ВАК, и тезисы конференций.

В заключение можно постановить, что в диссертационной работе Серёгиной Е.А. проведено систематическое исследование гемостаза при норме и патологии с применением широкого набора современных биофизических методов. Автореферат раскрывает основные положения диссертации полностью. Научная и практическая значимость работы не вызывают сомнения. Данная диссертационная работа отвечает требованиям, установленным пунктом 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ № 1168 от 01 октября 2018 году, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам диссертант, Серёгина Е.А., заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Официальный оппонент,  
научный сотрудник лаборатории биологически активных наноструктур  
ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ  
организация  
кандидат биологических наук

Адрес: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18  
Тел: +7(499)193-30-01  
E-mail: info@gamalyea.org

Подпись к.б.н. Осидак Е.О. удостоверяю  
Ученый секретарь ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ  
кандидат биологических наук



Егор Олегович Осидак



Л.К. Кожевникова