

ОТЗЫВ

официального оппонента Зозули Надежды Ивановны на диссертационную работу Муравлева Ивана Андреевича «Прокоагулянтные реакции активированных тромбоцитов. Эффекты антитромбоцитарных препаратов», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. – Биохимия (медицинские науки)

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Муравлева И.А. посвящена современной оценке функциональной активности тромбоцитов с определением их прокоагулянтного действия и оценке влияния антитромбоцитарных препаратов на характеристики тромбоцитов, участвующих в коагуляционном гемостазе. Данная работа является чрезвычайно актуальной. На сегодняшний день хорошо известны патофизиологические механизмы адгезии и агрегации тромбоцитов с формированием первичной тромбоцитарной пробки при повреждении эндотелия, разработаны и используются методики оценки действия антитромбоцитарных препаратов по их способности блокировать агрегацию тромбоцитов, однако прокоагулянтные свойства тромбоцитов и их влияние на плазменный гемостаз остается малоизученным.

В работе Муравлева И.А. проведено исследование способности активированных тромбоцитов ускорять ключевые реакции свертывания - образование фибрина и генерацию тромбина, а также оценка действия антитромботических препаратов на прокоагулянтные свойства тромбоцитов. Крайне интересным является исследование прокоагулянтных свойств тромбоцитарных микрочастиц, активированных различными индукторами. Таким образом, данная работа направлена на получение новых сведений о протромботической функциональной активности тромбоцитов и возможности влияния на них различных антитромботических препаратов.

Исследования в этой области актуальны, как с фундаментальной, так и прикладной клинической точки зрения. Так, разработка, валидация и внедрение инновационного метода оценки способности тромбоцитов ускорять образование фибрина, представленного автором, позволит своевременно детектировать протромботические и гипокоагуляционные нарушения гемостаза с целью предотвращения развития тромбозов и кровотечений. Оценка влияния различных антитромбоцитарных препаратов на прокоагулянтное состояние тромбоцитов и плазменный гемостаз может быть использована для дополнительного контроля и проведения своевременной коррекции антитромботической терапии.

Достоверность и новизна научных положений

В своей работе автор впервые продемонстрировал, что тромбоциты способны ускорять образование фибрина в плазме крови, обозначил способность тромбоцитов влиять на конечный этап коагуляционного гемостаза и генерацию тромбина, а также убедительно доказал, что эффекты тромбоцитов на коагуляционные реакции определяются их способностью экспонировать фосфатидилсерин на своей поверхности.

При исследовании действия антитромбоцитарных препаратов с различным механизмом действия было впервые показано, что не все эти препараты способны ингибировать прокоагулянтную реакцию тромбоцитов. В частности, добавление к тромбоцитам аспирина (ингибитора синтеза тромбоксана A₂), в отличие от тикагрелора (антагониста P2Y₁₂ рецепторов), руциромаба (антагониста гликопротеинов IIb-IIIa) и простагландина E₁ (активатора аденилатциклазы) не приводила к ослаблению их эффектов на коагуляционные реакции и экспонирование фосфатидилсерина. В то же время из литературы известно, что аспирин способен снижать экспонирование фосфатидилсерина на поверхности тромбоцитов при его приеме пациентами. Вопрос о таком расхождении действия препарата остается открытым и требует дальнейших исследований. Кроме того, в

рамках диссертационной работы было проведено исследование по оценке прокоагулянтных свойств тромбоцитарных микрочастиц. Известно, что эти микрочастицы, как и сами тромбоциты способны ускорять свертывание. Автором было показано, что в зависимости от силы активатора реакция свертывания плазмы протекает быстрее. Дальнейшие исследования показали, что способность микрочастиц ускорять коагуляционные реакции в тесте рекальцификации связаны только с их количеством. При разных способах активации тромбоцитов микрочастицы несут на своей поверхности одинаковое количество фосфатидилсерина и обладают одинаковой удельной коагуляционной активностью.

Достоверность полученных автором результатов определяется использованием методических подходов, адекватных поставленным задачам. В частности, им был разработан оригинальный метод исследования прокоагулянтных свойств тромбоцитов, связанных с изучением эффектов тромбоцитов не в суспензии, а предварительно осажденных на поверхность. Такой подход позволял исключить возможные эффекты агрегации тромбоцитов на изучаемые реакции.

Достоверность полученных результатов обеспечивается использованием современных методов исследований, репрезентативностью выборки, дизайном работы и статистическими методами обработки материала.

Степень обоснованности научных положений, сформулированных в диссертации

Основные положения, выносимые на защиту, являются хорошо обоснованными и подкрепляются тремя публикациями в международных изданиях, входящих в Q1 квартиль по уровню цитирования.

Практическая значимость

Работа носит фундаментальный характер, однако задачи, обозначенные автором, и обоснованные выводы по результатам проведенных исследований

очень важны в практической медицине. В своей работе автор убедительно продемонстрировал различия в экспонировании фосфатидилсерина на поверхности активированных тромбоцитов у пациентов с острым коронарным синдромом, получающих двойную антиагрегантную терапию (аспирин+тикагерлор), в сравнении со здоровыми добровольцами. Однако не вызывает сомнения, что результаты данной работы могут быть использованы гораздо шире при выборе тактики проведения антитромботической терапии в клинической практике гематологов, онкологов и других специалистов, принимающих участие в диагностике и лечении пациентов с высокими рисками тромбозов.

Оценка оформления диссертации, ее завершенности

Представленная диссертационная работа оформлена в традиционном стиле, изложена на 105 страницах машинописного текста, включает 8 таблиц и 18 рисунков, содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение результатов, выводы и список литературы, который включает 128 источников.

Во введении обосновывается актуальность и научная новизна исследования, представлены четкая цель и логичные задачи, а также положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы представлены данные о строении и функциях тромбоцитов, подробно описано их участие в свертывании крови, а также современные методы изучения их функциональной активности, обозначены патогенетические механизмы действия антитромбоцитарных препаратов. Отдельная глава обзора литературы посвящена тромбоцитарным микрочастицам, которые обладают прокоагулянтными свойствами.

Безусловным достоинством обзора литературы является глубина литературного поиска, четкий стиль изложения материала.

В главе материалы и методы подробно описаны методы исследования, применяемые в данной работе. Помимо использования стандартных методик,

таких как тест генерации тромбина, проточная цитофлуориметрия, автором был разработан модифицированный метод рекальцификации плазмы для оценки вклада тромбоцитов в образование фибрина, представлено подробное описание методики и условий иммобилизации тромбоцитов для проведения данного теста.

Результаты собственных исследований изложены последовательно и логично. Каждая таблица и рисунок находят соответствующее текстовое воплощение, дающее конкретное представление о фактическом материале.

В обсуждении результатов автор анализирует полученные результаты, сравнивая их с уже существующими данными в области изучения коагуляционных свойств тромбоцитов.

Выводы диссертации сформулированы четко и отражают важнейшие положения проведенного исследования, полностью соответствуют поставленным задачам и согласуются с положениями, выносимыми на защиту. Работа является последовательной, логичной и завершенной. Представленная работа свидетельствует о достаточно высоком уровне компетентности автора в вопросах физиологии и патологии гемостаза. Спектр использованных методов исследования отражает высокий методический уровень организации исследования.

Автореферат диссертации написан и оформлен в соответствии с требованиями Высшей аттестационной комиссии (ВАК) при Министерстве науки и высшего образования РФ, соответствует диссертационной работе.

Материалы диссертации отражены в 8 публикациях, в том числе в 3 статьях в международных изданиях и 5 тезисных публикациях.

Материалы диссертации были доложены и обсуждены на 6 крупных конгрессах и конференциях, в том числе международных.

Принципиальных замечаний и возражений по материалам диссертации, а также сделанным автором выводам не имеется.

Замечания и вопросы

Безусловным достоинством представленной работы является разработка модифицированного теста рекальцификации плазмы с осаждением тромбоцитов на дне микропланшета, позволяющего оценить роль прокоагулянтных тромбоцитов в плазменном гемостазе, исключив возможные эффекты агрегации тромбоцитов на скорость генерации фибрина. С клинической точки зрения возникает ряд вопросов:

1. Возможно ли применение данной методики в рутинной практике?
2. Можно ли использовать модифицированный тест рекальцификации плазмы для контроля антиагрегантной терапии?
3. Есть ли у Вас предложения по лабораторному контролю прокоагулянтного состояния тромбоцитов помимо оценки экспонирования фосфатидилсерина на поверхности тромбоцитов методом проточной цитофлуориметрии?

Заключение

Диссертационная работа Муравлева И.А. на тему «Прокоагулянтные реакции активированных тромбоцитов. Эффекты антитромбоцитарных препаратов», является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук Мазурова Алексея Владимировича, содержащей решение актуальной научной задачи – исследования прокоагулянтных свойств тромбоцитов и действия на них антитромбоцитарных препаратов. По методологическому подходу, объему выполненных диссертантом исследований, научной новизне полученных данных, их научно-практической значимости и опубликованным материалам, диссертационная работа Муравлева Ивана Андреевича полностью отвечает требованиям на соискание ученой степени кандидата наук, согласно п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от

21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., №650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г., №426 от 20.03.2021 г.), а ее автор заслуживает ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4 – «Биохимия (медицинские науки)».

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук, заведующий клинико-диагностическим отделением гематологии и нарушений гемостаза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации Зозуля Надежда Ивановна



Подпись доктора медицинских наук Зозули Надежды Ивановны заверяю, Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидат медицинских наук Джулакян Унан Левонович

«30» сентября 2021 г.



Дополнительные сведения

Адрес: РФ, 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, дом 4

Тел +7 (495) 612 29-12

E-mail: zozulya.n@blood.ru