

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Литвиненко Алёны Леонидовны

«Количественное описание популяции тромбоцитов в нативном состоянии и под воздействием агониста активации» по специальности 1.5.2. Биофизика на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук

Диссертационная работа посвящена изучению состояния тромбоцитов крови человека и их реакции на воздействие одного из основных агонистов активации – аденозиндифосфата. Основной, но не единственной функцией этих форменных элементов крови является предотвращение массивной кровопотери в случае нарушения целостности сосуда. Активированные тромбоциты участвуют в закупорке сосуда как самостоятельно, так и благодаря участию в каскаде коагуляции плазмы крови. Особенно важным в **практическом** плане является исследование поведения тромбоцитов при развитии сердечно-сосудистых заболеваний, занимающих одно из лидирующих мест среди причин смертности. Одним из осложнений этих заболеваний является риск появления тромбов в кровотоке. В то же время применение терапии для предотвращения образования тромбов может приводить к развитию геморрагических состояний. Поэтому изучение состояния тромбоцитов как в нативном состоянии, так и после воздействия агониста активации является **актуальным**.

Новизна работы. В работе впервые определено распределение тромбоцитов по индексу формы. Этот параметр формы связан со степенью активации тромбоцита. Показано изменение распределения тромбоцитов по индексу формы под воздействием агониста активации. Представлена модель процесса активации одиночного тромбоцита, на основе которой удаётся объяснить эффекты, наблюдаемые в распределениях как нативных тромбоцитов, так и после воздействия агониста активации. Используя представленную модель, удалось определить чувствительность тромбоцитов к

агонисту активации и изменение этого параметра при использовании антитромбоцитарной терапии.

Диссертационная работа Литвиненко А.Л. изложена на 119 страницах с 11 таблицами и 24 рисунками. Список литературы включает в себя 97 наименований. Автореферат представляет краткое изложение полученных результатов, основных положений и выводов диссертации.

Во введении обоснована актуальность работы, поставлена цель и задачи исследования, описаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология исследования, а также сформулированы положения, выносимые на защиту.

Первая глава посвящена литературному обзору, в котором подробно описана роль тромбоцитов в гемостазе согласно современной модели. Представлено описание структурных элементов тромбоцита, отвечающих за поддержание формы, а также связь изменения концентрации ионов кальция с изменением формы тромбоцита. Рассмотрено современное представление о воздействии как химических (агонисты активации), так и физических (изменение температуры и сдвиговой скорости) факторов активации тромбоцитов с акцентом на описании этапа изменения концентрации ионов кальция под воздействием этих факторов. Дополнительно представлено описание веществ, применяемых в качестве антитромбоцитарной терапии с кратким описанием механизмов воздействия на тромбоциты. В завершение приведено описание современных методов исследования тромбоцитов и подходов к решению обратных задач светорассеяния.

Вторая глава посвящена подробному описанию используемого в работе способа определения формы тромбоцитов. Для использования технологии сканирующей проточной цитометрии автором работы была проведена модернизация системы подачи пробы сканирующего проточного цитометра и изменён протокол работы с пробой для уменьшения воздействия со стороны измерительной установки и преаналитических факторов на пробы тромбоцитов.

Темой **третьей главы** является выбор подходящей оптической модели одиночного тромбоцита. Автор рассматривает две оптические модели, учитывающие различные искажения формы в процессе активации: искривление периферического кольца микротрубочек и появление псевдоподий. Также в главе представлено приближение этих моделей упрощённой моделью формы. Показано, что при использовании подходящей длины волны освещения отличиями формы от упрощённой оптической модели можно пренебречь.

Четвёртая глава посвящена выбору функции, описывающей распределение тромбоцитов по индексу формы. Выбраны три функции, описаны их математические свойства и построена суммарная функция, состоящая из трёх функций одного типа. Каждая из субфункций интерпретировалась, как описывающая неактивированную, частично-активированную или полностью активированную субпопуляцию. В завершении главы приведено сравнение трёх суммарных функций и выбрана наилучшая.

Пятая глава направлена на построение феноменологической модели активации тромбоцитов. В начале главы представлено математическое описание популяции тромбоцитов до любых воздействий. В рамках работы под воздействием на пробу понимается не только добавление агониста активации, но и проведение забора крови у донора. Описание отражает не только основные процессы, предшествующие изменению формы тромбоцитов, но и вариабельность протекания этих процессов в разных тромбоцитах одного донора. В главе рассмотрены два варианта зависимости изменения распределения по индексу формы под воздействием определённой концентрации аденозиндифосфата и выбрана зависимость, наиболее соответствующая экспериментально наблюдаемым эффектам.

Шестая глава посвящена экспериментальному подтверждению гипотез, сформулированных в предыдущих главах. В начале главы показано, что изменение длины волны света приводит к изменению определяемого

распределения тромбоцитов по индексу формы. Объяснение причины этого расхождения было предложено во второй главе. Далее в главе представлено описание 20 проб тромбоцитов условно здоровых доноров с использованием функции распределения, представленной в четвёртой главе, и определены средние значения мод для неактивированной, частично активированной и полностью активированной субпопуляции тромбоцитов. Следующий раздел главы посвящён определению чувствительности тромбоцитов к аденозиндифосфату на основе модели активации тромбоцитов, представленной в пятой главе. В рамках раздела определено пороговое значение начала изменения формы тромбоцитов на основе результатов для 9 условно здоровых доноров. В завершении главы показано, как изменяется чувствительность тромбоцитов к аденозиндифосфату при применении распространённой антитромбоцитарной терапии.

Завершают работу **«Заключение»**, **«Список сокращений и условных обозначений»** и **«Список литературы»**. В Заключении отдельно выделены основные результаты работы.

Полученные результаты модельных расчетов и их анализ согласуются с экспериментальными наблюдениями и не вызывают сомнений. Основные итоги работы представлены на нескольких профильных международных конференциях и опубликованы в ведущих журналах, рецензируемых системой WoS и Scopus (представлены в 6 публикациях).

В целом работа производит хорошее впечатление, однако к тексту диссертации можно высказать следующие замечания:

1. Корректность использования автором термина «измерение» в названии Главы 2 и далее по тексту вызывает сомнение. При использовании технологии сканирующей проточной цитометрии проводятся измерения интенсивности рассеянного света в зависимости от угла рассеяния, а затем, решая обратную задачу светорассеяния посредством достаточно сложных модельных расчетов определяется форма тромбоцитов. Поэтому уместнее было бы писать: «Определение формы тромбоцитов ...».

2. В тексте диссертации в явном виде не указана используемая концентрация агониста активации, хотя она и представлена на некоторых рисунках, но без указания единиц измерения (Рисунок 19, Рисунок 24). На рисунке 18 представлены результаты применения двух феноменологических моделей при условии добавления различной концентрации АДФ. Здесь размерность указана, однако также не для всех картинок. Кстати, в тексте отсутствуют ссылки на приведенные рисунки, например, на рисунки 17 и 18.
3. Не очень последовательно изложены методические подходы. Так, особенности подготовки пробы после воздействия агониста активации обсуждаются в главе 6, хотя логичнее было бы представить весь протокол работы с пробами в одном месте, в пункте 2.4 «Подготовка пробы» Главы 2.
4. На рисунке 23 отсутствуют подписи, указывающие, какой график соответствует нативному распределению, а какой - распределению под воздействием агониста активации.
5. Оформление, особенно в части форматирования текста, оставляет желать большей аккуратности и соответствия ГОСТу Р 7.0.11-2011. Например, в диссертации в списке литературы написано:

75. Maltsev V.P. Scanning flow cytometry for individual particle analysis / Maltsev V.P. // Review of Scientific Instruments – 2000. – Vol. 71 – № 1 – P.243–255.

А если следовать ГОСТу Р 7.0.11-2011 (см. стр.18), то нужно писать:

75. Maltsev, V.P. Scanning flow cytometry for individual particle analysis / V.P.Maltsev // Review of Scientific Instruments. – 2000. – Vol. 71, No. 1. – P.243–255.

Аналогичные несоответствия присутствуют и в других библиографических записях в диссертации и автореферате.

Высказанные замечания не влияют на общую положительную оценку проделанной работы и полученных результатов.

Таким образом, диссертация Литвиненко Алёны Леонидовны является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи математического описания популяции тромбоцитов в нативном состоянии и под воздействием агониста активации, имеющей значение для развития биологии и медицины, и **соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14** «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Официальный оппонент:

Зырянов Виктор Яковлевич

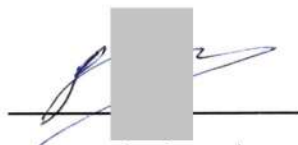
Доктор физико–математических наук (01.04.05 – Оптика),

профессор, руководитель научного направления

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН), ул. Академгородок, 50, г. Красноярск, 660036

+7 [redacted] 10,


z [redacted].ru


(подпись)

1 Зырянов В.Я.
(расшифровка подписи)

Дата « 09 » января 2024 г.

Подпись Зырянова В.Я. заверяю

Главный ученый секретарь, к.ф.-м.н.  /Шкуряев П.Г./

