

ВІДЗИВ

офіційного опонента

на дисертаційну роботу РОКА-МОЙЯ Яни Маріівни
“Регуляція агрегації тромбоцитів плазміноген/плазміновою системою”,
представлену до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата
біологічних наук за спеціальністю 00.03.04 – біохімія

Дисертаційна робота Рока-Мойя Я.М. присвячена дослідженню комплексу регуляторних взаємодій між плазміноген/плазміновою системою та тромбоцитарною ланкою гемостазу. **Актуальність теми дисертації не викликає сумніву.** Як зазначає автор, здатність тромбоцитів накопичувати та вивільняти низку регуляторних молекул обумовлює їх участь у регенеративних процесах, запаленні та тромбогенезі. Серцево-судинні захворювання тромботичного генезу впевнено утримують лідуючі позиції у світовому рейтингу смертності населення. Отже, ідентифікація чинників, що впливають на тромбоцитарну ланку гемостазу, а також розкриття біохімічних процесів, що лежать в основі дії біологічно активних речовин на тромбоцити, мають важливе наукове та практичне значення. З фундаментальної точки зору необхідні для розуміння механізмів регуляції процесів тромбоутворення і тромболізису взаємозв'язки між компонентами плазміноген/плазмінової системи та тромбоцитарною ланкою гемостазу є недостатньо вивчені. З іншого боку, на фоні широкого використання в медицині антикоагулянтних препаратів ця інформація вкрай необхідна для розробки новітніх засобів високо специфічної тромболітичної терапії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота тісно пов'язана з тематикою наукових досліджень відділу відділу хімії та біохімії ферментів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України і виконувалась в рамках декількох бюджетних тем.

Наукова новизна отриманих результатів, ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації. Робота ґрунтується на значному експериментальному матеріалі,

виконана на сучасному науковому та методичному рівні. Отримані дисертантом результати доповнюють і поглиблюють уявлення про участь тромбоцитів у регуляції активності плазміноген/плазмінової системи. Всі положення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертації, є науково обґрунтованими.

Автором показано, що тромбоцити накопичують та вивільняють при агрегації значну кількість функціонально активного PAI-1, що здатний ефективно пригнічувати процес активації плазміногену. З іншого боку, показано, що тромбоцити сприяють активації плазміногену та локальній генерації плазміну.

В роботі вперше показано, що плазміноген/плазмінова система обмежує агрегаційну здатність тромбоцитів і тим самим залучається до регуляції процесу тромбоутворення. Встановлено, що Lys-плазміноген, який може утворюватися на тромбоцитарній поверхні, чинить потужну антиагрегаційну дію та перешкоджає агоніст-індукованій реорганізації актинового цитоскелету тромбоцитів, що може бути одним із механізмів його антиагрегаційної активності. Отримані результати дозволяють стверджувати, що антиагрегаційний ефект Lys-плазміногену потребує щонайменше двоцентрової взаємодії проензиму за участі лізинзв'язувальних сайтів кринглових доменів з мембраноасоційованими протеїнами тромбоцитів.

Робота має **суттєве практичне значення**. Одержані дані щодо підвищення тромбоцитами ефективності активації плазміногену тканинним активатором та інгібування агоніст-індукованої агрегації тромбоцитів Lys-плазміногеном створюють підґрунтя для розробки нових терапевтичних підходів контролю тромбоутворення та тромболізису.

Автором розроблено кількісний метод визначення активності PAI-1 в тромбоцитах та плазмі крові людини із використанням desAB-фібрину бика як стимулятора, та спосіб визначення анти-Па-факторної (непрямої протитромбінової) активності препаратів низькомолекулярного гепарину методом турбідиметричного аналізу із використанням плазми крові як

джерела антитромбіну та фібриногену. Розроблений автором метод може знайти застосування в лабораторно-клінічній практиці при діагностиці та прогнозуванні тромботичних ускладнень, а також для контролю ефективності тромболітичної терапії. А спосіб визначення непрямой протитромбінової активності препаратів низькомолекулярного гепарину та тест-система на його основі можуть бути використані у фармацевтичній промисловості для контролю якості субстанцій та готових лікарських форм препаратів гепарину.

У роботі чітко сформульовано мету і 5 головних завдань дослідження.

Особистий внесок здобувача у виконання дисертаційної роботи не викликає сумніву, оскільки у більшості робіт, опублікованих за темою роботи спільно з іншими дослідниками, прізвище здобувача стоїть першим номером у списку співавторів.

За темою дисертації опубліковано 6 наукових статей і отримано один патент. Результати роботи також добре представлені на міжнародних наукових конференціях.

Загалом, дисертація демонструє високий рівень кваліфікації автора – володіння сучасними методами, здатність аналізувати свої результати та узагальнювати їх. Разом із загальною позитивною оцінкою дисертаційної роботи Я.М. Рока-Мойя, до неї виникли ряд зауважень і запитань.

1. Для одержаних препаратів фрагментів плазміногену (K1-3, K4 та K5) слід привести електрофоретичні дані, які свідчать про їх гомогенність з вказівкою молекулярної маси протеїнів (стор. 48-49).
2. Чи проводилось порівняння на одних і тих же зразках розробленого автором методу визначення активності PAI-1 з тест-системами які є на ринку ?
3. На стор. 119 автор вказує, що “В роботах Miles et al. IC50 6-АГК були близькими за значенням: 20 μ М 6-АГК на 50% пригнічувала зв’язування Glu-плазміногену...”. Але в роботах Miles et al.

вивчався Glu-плазміноген, а не Lys-плазміноген, як у автора дисертаційної роботи. Тому таке порівняння не є коректним. Крім того, виникає питання, яким чином можна пояснити близькість значень отриманих автором для Lys-плазміногену до таких які отримали Miles et al. для Glu-плазміногену, якщо враховувати, що значення K_d зв'язування останнього, наприклад з фібрином, у 8 разів нижче ніж для Lys-плазміногену (Suenson et al., 1990) ?

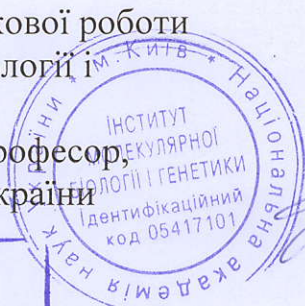
4. Висновок 2 (стор. 133) відносно розробки методу визначення активності PAI-1 краще поставити після висновків, які відносяться до фундаментальних аспектів роботи (навіть якщо це співпадає з порядком завдань).

Однак, всі зазначені зауваження вочевидь не знижують загальної високої оцінки розглянутої роботи.

Висновок. Вважаю, що дисертаційна робота Яни Маріївни Рока-Мойя “Регуляція агрегації тромбоцитів плазміноген/плазміновою системою” за актуальністю проблеми, науковою новизною отриманих результатів, можливістю практичного використання здійснених розробок, коректністю та достовірністю зроблених висновків повністю відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567 “Порядок присудження наукових ступенів...”, а її автор Рока-Мойя Я.М. заслуговує надання наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент:

Заступник директора з наукової роботи
Інституту молекулярної біології і
генетики НАН України,
доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НАН України



М.А.Тукало

Підпис *Тукало М.А.*
посвідчується

Зак. наук. М. Клейман