

Министерство науки и высшего образования  
Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение  
высшего образования

«Ярославский государственный  
педагогический университет  
им. К.Д. Ушинского»

Республиканская ул., д. 108/1,  
г. Ярославль, 150000  
тел. (4852) 30-56-61, факс (4852) 30-54-59  
e-mail: rector@yspu.org

http://yspu.org  
ОКПО 02080173, ОГРН 1027600676487,  
ИНН/КПП 7604010220/760401001



«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ФГБОУ ВО «Ярославский  
государственный педагогический  
университет им. К.Д. Ушинского»

д.п.н., доцент

М.В. Груздев

«12» сентября 2018 г.

21.09.2018 № 07-34/08

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

### ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского» о диссертационной работе Клычевой Майи Михайловны «Особенности регуляции процессов гемостаза в поздние сроки нормально протекающей беременности», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

### Актуальность исследования

Известно, что при беременности в организме женщины происходят существенные перестройки функциональных систем и это сопровождается местными и системными изменениями параметров гемостаза, фибринолитического профиля крови, в сочетании с протромбогенными ответами сосудистых эндотелиальных клеток. По данным ряда исследований физиологическая беременность сопровождается повышением коагуляционного потенциала крови, и в том числе за счет прироста концентрации фибриногена, витамин К-зависимых факторов свертывания, при одновременном снижении фибринолитической и естественной антикоагулянтной активности. Поскольку активизация этих гемостатических механизмов может привести к развитию осложнений во время беременности, родов и в послеродовом периоде, то их изучение является важной научной задачей. Существенная роль в регуляции процессов гемостаза принадлежит системам эндокринной, пара- и аутокринной сигнализации. Следовательно, поставленные автором диссертации задачи по изучению роли катехоламинов и газотрансмиттера, оксида азота, в изменениях

гемостатического профиля и функций тромбоцитов при беременности, является решением актуальной научной проблемы, имеющей важное прикладное значение. Особенно актуально исследование автором диссертации роли оксида азота, как пара- и аутокринной сигнальной молекулы, обеспечивающий передачу регулирующей информации от места ее создания (тромбоциты) к клеткам-соседям, а также анализ аутокринной петли регуляции агрегации тромбоцитов. Эта тема по-прежнему привлекает внимание исследований (на портале [www.pubmed.gov](http://www.pubmed.gov) имеются многочисленные публикации 2012-2018 гг., по данной тематике). Об актуальности исследования проблемы регуляции системы гемостаза и его важного звена агрегационной активности тромбоцитов, с помощью оксида азота, свидетельствует и то обстоятельство, что физиологическое течение беременности сопровождается изменениями продукции оксида азота. Однако направленность этих изменений окончательно не установлена и требует дополнительных исследований. Кроме того информация об эффективности и безопасности применения, при беременности, лекарственных препаратов, продуцирующих NO противоречивы. Следовательно, и эта проблема актуальна и требует дальнейшего изучения.

#### **Научная новизна исследования**

Получены новые данные об имеющихся различиях в функциональной активности тромбоцитов, проявляющихся в снижении уровня тромбоцитарного фактора 4 в плазме крови у женщин с нормально протекающей беременностью относительно небеременных женщинами. Обнаружение этого факта стало побудительным началом для изучения детальных механизмов действия этого и других факторов на систему гемостаза. При решении этой задачи, автор диссертационного исследования М.М. Клычева, на модели агрегации тромбоцитов впервые показала, что у женщин с нормально протекающей беременностью происходит снижение активности ферментов, участвующих в обмене NO: e-NOS, цГМФ, а в плазме крови наблюдается уменьшение продуктов этого обмена, концентрации нитратов/нитратов.

Серия модельных опытов с использованием донора NO, соединения SIN-1, проведенных автором, позволила впервые установить, что: 1) донор газотрансмиттера NO, SIN-1 в меньшей степени ингибирует агрегацию тромбоцитов беременных женщин; 2) реализуется сугубо индивидуальная ответная реакция тромбоцитов на этот регулирующий агент; 3) у беременных женщины чаще встречаются лица со сниженной чувствительностью тромбоцитов к действию донора NO; 4) под влияние донора NO, в сочетании с адреналином,

у беременных повышается гемостатический потенциал в большей степени, чем у небеременных женщин; 5) установлен факт, важный для персонафицированного подхода, разной чувствительности у лиц разным коагуляционным потенциалом. Автором диссертации получен комплекс новых данных о корреляции параметров гемостаза, функции тромбоцитов в условиях их инкубирования с донором NO, адреналином и АДФ.

### **Достоверность и обоснованность результатов исследования**

Автором диссертации проведено исследование особенностей проявления гемостатического профиля в условиях физиологической беременности у женщин на адекватной модели – агрегации тромбоцитов, что является характерным проявлением микрореологического и функционального поведения клеток этого типа. Для решения, поставленных в работе задач были использованы группы наблюдений со статистически достаточной величиной выборки, ее объем составил 50 – беременные и 20 – небеременные женщины. Обоснованность корректной интерпретации полученных результатов определяется тем обстоятельством, что автор работы использовала адекватные задачам и состоянию уровня развития исследования в данной области науки, методы и аппаратуру. Это современный лазерный анализатор агрегации тромбоцитов, приборы и методы для проведения биохимических исследований иммуноферментным методом для определения микро-и наномолярных концентрации биологически активных веществ, определяемых в плазме крови, адекватный донор оксида азота, вполне эффективно выделяющий NO в водных растворах. Группа контроля (небеременные женщины) была сопоставима по возрасту. Наблюдения и опыты *in vitro* выполнены на образцах крови, полученной от женщин с одинаковыми сроками беременности (38-40 недели). Достоверность полученных результатов обоснована применением автором диссертации корректной статистической обработки массивов данных и формулировании заключений и выводов на основе оценки статистически значимой разницы между сравниваемыми средними величинами, а также корректным сопоставлением полученных результатов собственного исследования с данными других авторов по изучаемой проблеме.

## **Практическая и теоретическая значимость работы**

Автором диссертационной работы исследована роль донора газотрансмиттера NO в изменениях коагуляционного профиля крови в условиях беременности и получены новые теоретические данные изменений агрегации тромбоцитов и параметров свертывания крови в этих условиях. Кроме того в диссертационном исследовании уточнены сигнальные пути, ассоциированные с изменением агрегируемости тромбоцитов, которые включали определение концентрации эндотелиальной NO-синтазы и циклического гуанилатмонофосфата (ц-ГМА), как основных элементов внутриклеточного сигнального каскада для действия оксида азота. Выполненные корректные исследования влияния SIN-1, как донора оксида азота, на агрегацию тромбоцитов могут быть использованы как клеточные модели для доклинических испытаний химических соединений со свойствами доноров NO и других газотрансмиттеров (H<sub>2</sub>S и CO). Исследованные индивидуальные различия в чувствительности показателей гемостаза и агрегации тромбоцитов на действие донора NO, у разных лиц, могут стать теоретической и практической основой для разработки персонализированных подходов к лечению осложнений беременности. Полученные на достаточно большой статистической выборке (n=50) значения доверительных интервалов лабораторных показателей e-NOS, ц-ГМФ, адреналина и норадреналина могут быть использованы в качестве ориентировочных границ нормы для беременных женщин в срок гестации 38-40 недель.

## **Объем и структура работы**

Диссертация Клычевой М.М. «Особенности регуляции процессов гемостаза в поздние сроки нормально протекающей беременности» написана с соблюдением правил, ее объем не превышает установленных нормативов и включает 142 страницы печатного текста, А4. При этом текст работы расположен по традиционному плану и состоит из введения, главы «Обзор литературы», «Материал и методы исследования», «Результаты исследования и их обсуждение», а также из выводов, списка сокращений и списка литературы. Список литературы включает 205 работ, из них 80 работ отечественных авторов. Диссертация иллюстрирована 27 рисунками, 18 таблицами.

## **Общая характеристика работы**

Диссертация Клычевой М.М. включает введение, главу «Обзор литературы», «Материал и методы исследования», Четыре главы собственных исследований, изложенных на 58 стр. текста с иллюстрациями, главу «Обсуждение результатов исследования», список сокращений и список цитируемых литературных источников.

Во введении автор обосновывает выбор и актуальность темы, ставит задачи исследования и определяет положения, выносимые на защиту. Этот раздел включает все необходимые формальные параграфы и пункты, соответствует принятым правилам и стандартам оформления, вводит читателя в проблему.

В главе «Обзор литературы» на 22 страницах были проанализированы особенности гемокоагуляции и рассмотрены механизмы ее регуляции в условиях нормально протекающей беременности. Второй блок обзора литературы был посвящен исследованию особенностям функций тромбоцитов и их регуляция при беременности. Анализ этой главы свидетельствует о хорошем знании литературы автором диссертации.

Глава «Организация, материалы и методы исследования» написана, четко, информативно и дает ясное представление о том, как автор собирается решать поставленные задачи, методики исследования и аппаратуры соответствуют требованиям сегодняшнего для развития исследований в этой области.

В главе 3 приводятся результаты собственных исследований, и в том числе, описывается данные опытов по инкубации тромбоцитов с донором NO и оценка их агрегационной активности при этом, а также содержание исследования роли NO и адреналина в процессах свертывания плазмы, лишенной эритроцитов и лейкоцитов. Следует заключить, что дизайн исследования и полученные результаты вполне адекватны поставленной задаче.

В четвертой главе автор диссертации исследует изменение основных, общепринятых характеристик свертывающей системы крови, в условиях нормально протекающей беременности и, сравнивая с небеременными женщинами, оценивает влияние этого физиологического состояния на систему коагуляции.

В названии главы 5, результатов собственных исследований не хватает законченности, не говорится о взаимосвязи каких показателей идет речь. Хотя в дальнейшем из контекста становится все ясно. Здесь речь идет о корреляционном анализе между показателями,

ассоциированными с регуляторной ролью NO параметрами системы свертывания крови и агрегации тромбоцитов. В этой части работы следовало бы именно подчеркнуть и интерпретировать корреляционную, а не функциональную (в физиологическом смысле) связь параметров, что было именно получено автором.

Важным аспектом исследования в диссертации Клычевой М.М. было изучение индивидуальных особенностей NO-зависимых изменений показателей агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. Полученные результаты оценки индивидуальные особенности NO-зависимых изменений показателей агрегации тромбоцитов имеют перспективу практического использования. Эти материалы представлены в главе 6 и затем составили содержание трех выводов диссертации.

В главе «Обсуждение результатов исследования» автор на 15 стр. текста достаточно глубоко обсуждает полученные данные своего исследования в сопоставлении с результатами и теоретическими обобщениями, выполненными другими авторами. Здесь проявилась хорошая осведомленность автора о результатах исследования в этой научной области, причем автор анализирует работы самых последних лет. В той или иной степени все полученные основные результаты исследования были осмыслены, обсуждены и на основе их статистической обработки послужили формулированию выводов по диссертации.

### **Замечания по диссертации**

Не корректно звучит название параграфа в главе «Обзор литературы» как: «Особенности функции тромбоцитов и ее регуляция». Не указано у кого анализируются эти особенности. Требуется пояснить.

Название глав может вызвать непонимание у оппонента или читателя, например, «Глава 5. Функциональная взаимосвязь показателей у небеременных и беременных женщин». Нужно пояснить о какой функциональной взаимосвязи идет речь.

В главах 3 и 6, названия звучат так, что может вызвать непонимание: «Индивидуальные особенности NO-зависимых изменений показателей агрегации тромбоцитов и свертывания крови у небеременных женщин и женщин в поздние сроки нормально протекающей беременности *in vitro*». При таком построении фразы, можно думать о беременности *in vitro*.

## Заключение

Диссертация Клычевой Майи Михайловны на тему «Особенности регуляции процессов гемостаза в поздние сроки нормально протекающей беременности» является законченной научно-квалифицированной работой, содержащей решение актуальной задачи – комплексное исследование механизмов регуляции гемостаза у женщин на поздних сроках беременности.

По методическому уровню, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Клычева Майя Михайловна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Отзыв на диссертационную работу обсужден и утвержден на заседании кафедре медико-биологических основ спорта ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского» 14.09.2018, протокол № 1.

Отзыв составил доктор биологических наук,  
профессор кафедры медико-биологических  
основ спорта

 Муравьев А.В.

Заведующий кафедрой  
кафедры медико-биологических основ спорта  
заслуженный деятель науки, доктор медицинских  
наук, профессор

 Левин В.Н.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского». Адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Республиканская, д. 108/1. Телефон: (4852) 30-56-61. Адрес электронной почты: [rector@yspu.org](mailto:rector@yspu.org)