

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 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 газотрансммиттера 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 персонализированного 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 (H₂S 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 современного 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