

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Клычевой Майи Михайловны « Особенности регуляции процессов гемостаза в поздние сроки нормально протекающей беременности», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология

Диссертация Клычевой М.М. «Особенности регуляции процессов гемостаза в поздние сроки нормально протекающей беременности» посвящена важной проблеме биологии и медицины - исследованию плазменного и тромбоцитарного гемостаза при нормально протекающей беременности в поздние сроки гестации и особенностей регуляции его системой оксида азота у беременных и здоровых женщин.

Изучению показателей системы гемостаза придается большое значение как важнейшему звену в развитии осложнений во время беременности, родов и в послеродовом периоде. Выраженные изменения гемостаза во время беременности и родов существенно повышают риск возникновения тромбозов и плацентарно-сосудистых осложнений.

Особый интерес исследователей в последние годы вызывают внутриклеточные мессенджеры, в частности, оксид азота, роль которого в регуляции ряда физиологических и патологических процессов в организме подвергается в настоящее время интенсивному изучению. Оксид азота принимает участие также и в регуляции системы гемостаза. Вопрос о биосинтезе оксида азота при нормально протекающей беременности остается открытым. Большинство исследователей считают, что биосинтез оксида азота при нормально протекающей беременности усиливается, особенно во втором триместре, а пика достигает в третьем. Однако есть противоположные точки зрения. До сих пор нет однозначного мнения в вопросах регуляции оксидом азота активности тромбоцитов.

При развитии плацентарной недостаточности содержание NO в крови матери, как правило, сильно снижается. У женщин с угрозой прерывания беременности выявлено значительное снижение уровня суммарных нитратов и нитритов. Все эти данные, по-видимому, указывают на важную роль оксида азота в патогенезе патологии беременных. Ввиду этого можно оценить важность поддержания NO на определенном уровне, а отсюда - необходимость изучения эффективности и безопасности применения донаторов NO при беременности. При этом необходимо установить индивидуальные особенности действия донатора оксида азота SIN-1 на агрегацию тромбоцитов и свертывание богатой тромбоцитами плазмы крови.

Стимуляцию или угнетение родовой деятельности во многом определяют адренергические медиаторы - адреналин и норадреналин. Кроме того, они влияют на

систему гемостаза, прежде всего- на функцию тромбоцитов. Поэтому вполне оправданы исследования автора, в которых изучены изменения гемостаза под влиянием донатора оксида азота в плазме беременных женщин, обработанной адреналином.

Принципиально новыми и важными являлись исследования автора, в которых изучались закономерности действия донаторов оксида азота на агрегацию тромбоцитов и свертывание крови в зависимости от индивидуальных особенностей организма женщины к действию данного донатора в норме и при физиологически протекающей беременности.

Все вышеизложенное определяет актуальность и важность данной диссертации.

Написана диссертация по традиционному плану и состоит из введения, в котором кроме актуальности исследования изложены цель и задачи диссертации, основные положения, выносимые на защиту, теоретическая и практическая значимость, апробация работы, обзора литературы, материалов и методов исследования, 4 глав, в которых изложены результаты исследования и главы с их обсуждением, 5 выводов, списка литературы. Список использованной литературы включает 205 работ, из них 80 работ отечественных авторов. Диссертация иллюстрирована 27 рисунками, 18 таблицами.

Наиболее значимыми результатами являются следующие.

Установлено, что донатор оксида азота SIN-1 *in vitro* у женщин с нормально протекающей беременностью в 38-40 недель гестации вызывает менее выраженное снижение максимальной степени агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ, по сравнению с небеременными женщинами. Это различие не удается выявить при использовании адреналина в качестве индуктора агрегации. Это различие приобретает особое значение на фоне данных о повышении содержания адреналина и норадреналина в периферической крови беременных по сравнению с небеременными женщинами. Выявлены индивидуальные особенности чувствительности тромбоцитов у женщин на стимуляцию донатором оксида азота SIN-1. В группе беременных чаще встречаются женщины со сниженной чувствительностью тромбоцитов к донатору оксида азота SIN-1 по данным агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ по сравнению с небеременными женщинами. На основании исследования влияния донатора оксида азота SIN-1, адреналина и их сочетания на свертывание богатой тромбоцитами плазмы выявлены более выраженные гиперкоагуляционные изменения показателей тромбоэластограммы у женщин с нормально протекающей беременностью в 38-40 недель гестации по сравнению с небеременными женщинами. Установлено, что в зависимости от чувствительности тромбоцитов к действию оксида азота у обследованных женщин наблюдается различная гемостатическая направленность плазмы крови. У женщин с повышенным коагуляционным потенциалом крови по данным тромбоэластографии наблюдается угнетающее действие SIN-1 на свертывание богатой тромбоцитами плазмы крови *in vitro*.

Выявлено, что у беременных женщин по сравнению с беременными оказались

повышенными в крови концентрация суммарных нитратов и нитритов, эндотелиальной синтазы оксида азота и циклического гуанозинмонофосфата.

Работа выполнена на достаточном клиническом материале (в исследование были включены 70 женщин в возрасте от 20 до 32 лет. Контрольную группу составили 20 практически здоровых небеременных женщин. Основную группу составили 50 женщин с нормально протекающей беременностью в срок гестации 38-40 недель, поступившие в акушерскую клинику ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В.Н. Городкова» Минздрава России. Все небеременные женщины были разделены на подгруппы с целью выявления индивидуальных особенностей действия донатора оксида азота SIN-1 на функциональную активность тромбоцитов, в зависимости от способности тромбоцитов реагировать на стимуляцию SIN-1. У этих женщин критерием для формирования подгрупп служило относительное изменение степени агрегации тромбоцитов под влиянием АДФ после инкубации плазмы богатой тромбоцитами (PRP) с SIN-1,

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на конференциях различного уровня и опубликованы в открытой печати (19 публикаций). Опубликованные работы полностью отражают основную суть исследования и его научно-практическую значимость.

Материалы диссертации используются в учебном процессе кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России, кафедры акушерства и гинекологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В.Н. Городкова» Минздрава России, включены в программу цикла повышения квалификации в рамках непрерывного медицинского образования «Диагностика нарушений гемостаза в акушерстве, гинекологии и неонатологии» по специальности «Клиническая лабораторная диагностика».

Все основные положения диссертации отражены в автореферате.

Несмотря на положительные стороны рецензируемой диссертации, необходимо сделать ряд замечаний и обсудить некоторые не совсем понятные моменты.

В задаче № 2 «Оценить особенности функциональной активности тромбоцитов женщин с нормально протекающей беременностью в срок гестации 38-40 недель путем определения тромбоцитарного фактора 4 и β -тромбоглобулина в периферической крови». не отражено то, что автор для оценки функциональной активности использовала и агрегацию тромбоцитов.

В обзоре литературы недостаточно анализируются приведенные данные.

Например, автор приводит данные -начиная со II триместра беременности снижается антикоагулянтный потенциал крови, вследствие уменьшения содержания основного физиологического антикоагулянта – антитромбина III (АТ III). Снижается его потребление на инактивацию минимальных количеств тромбина. Но при этом не объясняется- каким

образом может снижаться потребление антитромбина при наличии гиперкоагуляции? Скорее за счет увеличения потребления и снижается концентрация.

В ходе развития беременности в норме возрастает степень тромбинемии, обнаруживаемой по увеличению содержания продуктов деградации фибриногена (ПДФ), растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), фибрина (D-димер). Поэтому уровень D-димера у беременных не отражает наличие тромботических осложнений. Эти изменения связаны с интенсификацией процессов внутрисосудистого свертывания крови, в том числе в маточно-плацентарном кровотоке. D-димер образуется при лизисе не фибриногена, а фибрина. Поэтому вопрос- чем отличается внутрисосудистое свертывание крови от тромбообразования или ДВС- синдрома?

Разработаны нормативные значения для эндотелиальной синтазы оксида азота в богатой тромбоцитами плазме у беременных женщин с нормально протекающей беременностью в сроке гестации 38-40 недель, а также для циклического гуанозинмонофосфата в богатой тромбоцитами плазме. Это совершенно неоправдано указывается в разделе результаты исследования. Кроме того, недостаточное количество опытов не позволяет говорить о нормативных значениях. Можно указать, что полученные результаты могут лечь в основу этих значений при продолжении аналогичных исследований в других клиниках.

Автор приводит литературные данные о стимулирующем эффекте NO и цГМФ на активацию тромбоцитов только при низкой дозе агонистов тромбоцитов, и тормозящим – в высокой концентрации. При этом использует в своей работе лишь высокие дозы АДФ.

Автор не исследовала биохимические показатели коагулограммы у беременных и небеременных женщин с использованием донатора оксида азота и адреналина. При этом во многом теряется смысл этих опытов в случаях, где эти вещества не использовались. Тромбоэластографии далеко не всегда достаточно. Особо это заметно при анализе фибринолитической активности (ФА). По данным биохимических исследований у беременных женщин ФА значительно увеличена, а по данным тромбоэластограммы- не отличается от нормы. Вообще анализ ФА по ТЭГ, особенно в плазме, обогащенной тромбоцитами, проводить нецелесообразно, так как сужение ТЭГ происходит не из-за фибринолиза, а вследствие тромбодинамической функции тромбоцитов.

Есть замечания по разделу «Материалы и методы» Не везде указаны авторы использованных методов (например, метод фибринолитической активности), что затрудняет оценку результатов. Неясно, подсчитывалось и стандартизовалось ли число тромбоцитов в обогащенной тромбоцитами плазме, особенно при исследовании агрегации тромбоцитов, что имеет важное значение. При добавлении в плазму крови адреналина или донаторов оксида азота разводилась ли (и чем) контрольная плазма и проводилась ли аналогичная инкубация в контроле? Это не указано в методах. Почему использовали лишь

высокие дозы АДФ и каковы они? Почему это не указано? В исследовании Marjanovic J.A. с соавт. (2005) показано, что донаторы оксида азота в низких концентрациях стимулировали агрегацию тромбоцитов, а в высоких ингибировали. Какие дозы использовала автор в сравнении с данными Marjanovic J.A.?

Можно отметить ряд неточных и небрежностей. Например- фраза- у беременных женщин была отмечена более низкая. И точка. Установлены изменения показателей тромбоэластограммы после введения адреналина и более выраженные изменения показателей тромбоэластограммы. Куда введения? Среди беременных женщин значение показателей адреналина и цГМФ достоверно не различались. Между собой? В тексте и в таблице гематокрит отнесен к показателям гемостазиограммы, а это не верно. В некоторых таблицах неоправданно присутствует английский текст. В таблице есть название- функциональная взаимосвязь показателей у небеременных и беременных. Каких показателей?

После каждого раздела результатов исследования есть подраздел- Резюме. Как правило, он полностью повторяет сам раздел, поэтому его наличие теряет смысл.

Несмотря на то, что выводы диссертации соответствуют задачам, количество выводов их необоснованно превышает. Последней задаче соответствуют три вывода. Это связано с тем, что в них нет обобщения, излишне расписаны результаты- например, показатели тромбоэластограммы. Все это есть в самом тексте диссертации, а выводы должны их обобщать.

Эти замечания не относятся к основным положениям диссертации и поэтому не умаляют ее значимости.

Можно заключить, что диссертационная работа Клычевой М.М. является самостоятельным и законченным научным трудом, посвящённым актуальной и современной проблеме – изучению особенностей агрегации клеток крови в норме и патологии и обоснованию принципов коррекции выявленных нарушений.

Работа выполнена на современном научно-методическом уровне. Выводы, сформулированные автором, обоснованы, подтверждены достоверным материалом и логически вытекают из содержания работы.

По своей актуальности, глубине и объему проведенных исследований, а также научно-практической значимости диссертационная работа Клычевой М.М. на тему: «Особенности регуляции процессов гемостаза в поздние сроки нормально протекающей беременности соответствует требованиям п.8 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №74 от 30.01.2002 г. (с дополнениями, утвержденными постановлением Правительства РФ №227 от 20.04.2006 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Официальный оппонент

Рук. Отделения гравитационной хирургии

И гемодиализа ФГБОУ ВО «ПИМУ» МЗ России,

Засл. Деятель науки РФ, доктор мед. Наук, профессор

Левин Г.Я.

Подпись профессора Левина Г.Я. заверяю

Ученый секретарь Ученого Совета, д.б.н.

Андреева Н.Н.



Андреевой чашкой к.м.н.

Татьяна /Е.Д. Андреева/

