

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на работу Поповичевой Александры Николаевны «Онтогенетические особенности гемостаза, реологии и окислительного метаболизма крови в норме и при патологии (на примере воспалительных заболеваний кишечника)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных

Актуальность темы. Выявление особенностей функционирования системы гемостаза в онтогенезе, несомненно, является - одной из актуальных тем физиологии. Нарушение баланса в работе гемостаза приводит или к блокированию потока крови или кровоизлиянию.

Значение микроциркуляции в поддержании гомеостаза организма определяется морфологией микроциркуляторного русла, регуляцией кровотока в микрососудах (артериолах, венах, капиллярах), а также функциональным состоянием клеток крови и эндотелия (Guven G., Hilty M.P., Ince C., 2020; Gurkan U.A., 2021).

Эритроциты играют основную роль в микроциркуляции, поскольку непосредственно участвуют в газообмене тканей и органов, а также реагируют и координируют изменения в локальных уровнях кислорода (Miranda M., Balarini M., Caixeta D., Bouskela E., 2016). Известно, что эритроциты участвуют в регуляции сосудистого тонуса за счет выделения потенциальных вазодилататоров – аденозинтрифосфата (АТФ) и оксида азота (Рамазанов В.В. с соавт., 2018; Richardson K.J., Kuck L., Simmonds M.J., 2020). Эритроциты определяют текучесть крови в зонах газообмена, за счет своих реологических свойств – агрегации и деформируемости (Marossy A., Svorc P., Kron I., Grecova S., 2009). Агрегация и деформируемость эритроцитов определяют вязкость крови. Величина вязкости крови также зависит от значения гематокрита и вязкости плазмы крови (Фирсов Н.Н., Джанашия П.Х., 2008; Kang Y.J., 2018). Известно, что процесс агрегации эритроцитов определяется биофизическими и физико-химическими факторами и свойствами плазмы крови и эритроцитов (Baskurt O.K., Meiselman H.J., 2009). Проагрегантными свойствами обладает альбумин, иммуноглобулины, простагландины, простаглицлины и др. субстраты (Ben-Ami R., et al., 2003). Агрегацию эритроцитов характеризуют биохимические и биомеханические свойства мембран: уровень сиаловых кислот, состав и распределение мембранных фосфолипидов, заряд мембран, жирнокислотный состав и др., морфологические свойства мембран: форма, средний объем

ИМБП ВХ. № 08/153
от «21» 01 2025 г.

эритроцита (mean cell volume, MCV), биофизические свойства мембран: осмотическая резистентность, электро- и магнитофоретическая подвижность и др. (Elblbesy M.A., Moustafa M.E., 2017). Для изучения свойств эритроцитов определяют декстран-индуцированную агрегацию (Pribush A., Zilberman-Kravits D., Meyerstein N., 2007). Эритроциты с измененной морфологической структурой (эхиноциты) не препятствуют агрегации и формируют агрегаты повышенной прочности (Berling C., et al., 1988).

Особое значение агрегация приобретает при патологии, при развитии синдрома повышенной вязкости крови. Кроме увеличения вязкости плазмы крови, изменяется степень агрегации эритроцитов, скорость агрегатообразования, размеры и морфология (агрегаты могут приобретать «глыбчатую» структуру) (Aleman M.M., Walton B.L., Byrnes J.R., Wolberg A.S., 2014). «Глыбчатые» агрегаты сохраняются даже при высоких скоростях сдвига, что делает нормальный кровоток в микрососудах невозможным (Пахрова О.А., Гринева М.Р., Иванов С.К., 2008; Delannoy M., Fontana A., D'Arrigo M., Riquelme B., 2015). Повышение агрегации эритроцитов наблюдается при многих патологических состояниях: сахарный диабет, сосудистые, онкологические, воспалительные, инфекционные заболевания, ожоговой шок и др. (Муравьев А.В., Чопоров С.В., Ройтман Е.В., Маймистова А.А., 2006; Levin G.Ya., Egorihina M.N., 2013; Ugurlu E., et al., 2016; Sheremet'ev Y.A., Popovicheva A.N., Rogozin M.M., Levin G.Y., 2019). Прямым следствием патологической агрегации эритроцитов является централизация кровотока и недостаточность тканевой перфузии (Stoltz J.F., Donner M., 1991; Bishop J.J., et al., 2004). Увеличение агрегации способствует развитию ишемии, тромбозам, нарушению микроциркуляции органов и тканей, снижению оксигенации и развитию гипоксии (Jung F., et al., 2011). Патологически прочные агрегаты эритроцитов препятствуют вхождению клеток в узкие капилляры и способствуют их транспорту по более широким сосудам в обход капиллярных сетей (Popel S., Johnson P.C., 2005). Это приводит к несоответствию между кровотоком по магистральным сосудам и в микроциркуляторном русле, а также к образованию «плазматических» капилляров (свободных от эритроцитов).

Наряду с агрегацией, важнейшим реологическим показателем является деформируемость эритроцитов, отражающая их способность адаптировать свою форму к динамично меняющимся условиям кровотока (Муравьев А.В. с соавт., 2013). Деформация эритроцита повышает гидродинамическое перемешивание цитоплазмы эритроцита. Это ведет к усилению внутриклеточной конвекции кислорода, дезокси- и оксигемоглобинов, т.е. способствует внутриэритроцитарной диффузии кислорода и является одним

из механизмов внутриклеточного транспорта кислорода (Березовский В.А., Сушко Б.С., 1984).

Способность эритроцитов к деформации определяется вязко-эластичными свойствами мембраны эритроцита, вязкостью внутреннего содержимого и отношением площади клетки к ее объему (Герасимов Л.В., Мороз В.В., Исакова А.А., 2010; Danielczok J.G., et al., 2017; Renoux C., et al., 2019). К снижению деформируемости приводит изменение морфологии эритроцита, повреждение мембранных комплексов и фосфолипидного бислоя, например, в результате окислительного стресса (ОС) и др. факторов. Активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) является одним из механизмов снижения деформируемости при различных патологических состояниях (Sengoz T., et al., 2020). Вязкость внутреннего содержимого эритроцита зависит от концентрации и свойств гемоглобина, определяемых показателями среднего содержания гемоглобина в эритроците (mean cell hemoglobin, MCH) и средней концентрацией гемоглобина в эритроцитах (mean cell hemoglobin concentration, MCHC). При значительном увеличении внутриклеточной вязкости деформационные свойства эритроцитов существенно ухудшаются (Bosch F.H., et al., 1994). Снижение уровня внутриклеточного АТФ нарушает образование сократительных белков цитоскелета и способствует снижению деформируемости эритроцита (Сторожок С.А., Санников А.Г., Белкин А.В., 2009; Makhro A., et al., 2016). Снижение деформируемости эритроцитов (даже на 10%) обуславливает развитие застойных явлений в микроциркуляторном русле, нарушение оксигенации и, как следствие, возникновение тканевой гипоксии (Parthasarathi K., Lipowsky H.H., 1999). Гипоксия же, в свою очередь, вызывает дальнейшее нарушение микроциркуляции, отягощая патологический процесс.

Таким образом, реологические свойства крови (агрегация и деформируемость эритроцитов) имеют решающее значение для адекватной перфузии тканей, газообмена и доставки клеткам необходимых субстратов. Несмотря на научные достижения и разработки в области гемостаза, к настоящему времени не раскрыты возрастные особенности становления и развития реологии крови, а также возрастные особенности метаболической активностью форменных элементов. Работы в этом направлении единичны как в отечественной, так и в мировой литературе.

На этом основании диссертационная работа Поповичевой А.Н., целью которой являлось изучение возрастных особенностей взаимосвязи функциональных свойств клеток крови и ее окислительного метаболизма в норме и при воспалительных заболеваниях кишечника, представляется

актуальной, своевременной и востребованной с теоретических и практических позиций.

Задачи исследования вытекают из поставленной цели, четко сформулированы, адекватно обеспечиваются выбранными методами сбора и анализа данных, соответствуют выводам диссертации.

Структура диссертационной работы. Диссертация построена по традиционному плану: изложена на 185 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с изложением результатов собственных исследований, обсуждения результатов, обсуждения результатов, заключения, выводов. Работа завершается списком литературы, который включает 151 позицию отечественных и 307 - зарубежных авторов.

Во введении отражена актуальность, вытекающие из нее цель и соответствующие задачи исследования. Введение четко отражает научную новизну и практическую значимость исследования.

Обзор литературы написан хорошим языком, достаточно полно и с систематических позиций освещает классические и современные представления о ряде физико-химических процессов, реализующихся в крови. В частности, в рамках данной главы автором приведена подробная характеристика реологических и гемостазиологических свойств рассматриваемой биологической жидкости, причем акцент сделан на возрастных особенностях данных параметров. Также в соответствующем разделе главы детально описаны окислительные реакции и антиоксидантные системы крови и динамика их преобразования в онтогенезе. Кроме того, раскрыто потенциальное сопряжение гемостаза, реологии и окислительного метаболизма крови, в том числе его участие в механизмах развития дисфункций различного генеза. Проведенная систематизация существующих взглядов на выбранную проблему позволила автору в полной мере обосновать актуальность исследования.

Объем проработанных литературных источников достаточен и полностью отражает изучаемую проблему.

Во второй главе представлены подробная характеристика материала и методов исследования, которые были использованы для решения поставленных задач, а также данные собственных исследований диссертанта.

В первом разделе второй главы подробно охарактеризованы манипуляции, выполненные соискателем на этапе пробоподготовки. Последующие подглавы последовательно раскрывают использованные автором методические приемы, часть из которых реализована на вновь созданном и запатентованном с участием диссертанта оборудовании. Так,

представлены подробные описания технологии изучения реологических свойств крови и мембранных свойств эритроцитов, показателей тромбоцитарного и плазменного гемостаза, маркеров окислительного метаболизма и антиоксидантных систем крови практически здоровых людей и пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника разных возрастных категорий. Однозначно прописаны критерии включения и исключения пациентов из группы.

Объем исследования достаточен для проведения статистической обработки: проанализированы образцы крови, полученные от 132 практически здоровых людей и 149 пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит), разделенных на 4 возрастных группы (5-6 лет, 7-11 лет, 12-17 лет и 18-25 лет). Кроме того, отдельно была выделена подгруппа, состоящая из 27 пациентов и прошедшая курс лечения, включавший 10 процедур гипербарической оксигенации.

Выбранные автором методы исследования вполне соответствуют целям и достаточны для решения задач исследования. Для оценки и интерпретации полученных результатов автором использованы современные методы статистической обработки данных.

Результаты собственных изысканий автора изложены и систематизированы в третьей главе диссертации. Так, в рамках третьей главы Поповичева А.Н. подробно и иллюстративно (с использованием многочисленных рисунков и таблиц) приводит сведения о состоянии реологии, гемостаза и окислительного метаболизма крови практически здоровых людей изученных возрастных категорий. Выявлено, что с увеличением возраста у практически здоровых людей наблюдается снижение деформируемости и возрастание агрегации эритроцитов; активация индуцированной агрегации тромбоцитов, а также модификация плазменного гемостаза. Выявлена интенсификация свободнорадикальных процессов и пропорциональное нарастание антиоксидантной активности крови в процессе онтогенеза. Проведен корреляционный анализ параметров в форме информативных «корреляционных графов». Корреляционный анализ наглядно отображает онтогенетическую трансформацию в становлении взаимосвязей изучаемых показателей. В частности, однозначно просматривается количественное увеличение корреляционных связей в процессе взросления индивида.

По аналогичному алгоритму автор диссертационной работы описывает особенности гемореологических, метаболических параметров и характеристик свертывающей системы крови у лиц, имеющих

воспалительные заболевания кишечника, так у пациентов старше 7 лет выявлены корреляции, определяющие взаимосвязь показателей про- и антиоксидантной системы крови как с реологическими, так и гемостазиологическими свойствами. Соискателем убедительно показано, что в каждой возрастной группе количество корреляций выше, чем у здоровых сверстников. Дополнительным подтверждением данному факту выступают данные, изложенные диссертантом в завершающем разделе главы, которые указывают одновременно на коррекцию изученных параметров крови после проведения курса гипербарической оксигенации: снижение агрегации и увеличение деформируемости эритроцитов, уменьшение активации и агрегации тромбоцитов, восстановление баланса про- и антиоксидантных систем, а также выявлено снижение количества корреляционных связей между оцениваемыми показателями биологической жидкости.

Заключение по работе логично завершает материал диссертационного исследования. В данном разделе на основании критического анализа данных литературы и собственных исследований автора представлена обобщающая характеристика состояния реологии, гемостаза и окислительного метаболизма крови в норме и при стойких нарушениях гомеостаза, возникающих в условиях хронической патологии (на примере воспалительных заболеваний кишечника). Проанализированы физиологическая и клиническая значимость формирования сопряжения между рассматриваемыми группами показателей как способа гомеостазирования крови.

Выводы хорошо аргументированы, полностью соответствуют задачам и являются логичным завершением исследования.

Научная новизна работы связана с тем, что диссертантом обобщен и систематизирован большой материал по возрастным особенностям показателей гемореологии, тромбоцитарного и плазменного гемостаза, по качественным и количественным характеристикам эритроцитов и тромбоцитов, а также интенсивности свободнорадикальных процессов и антиоксидантной активности плазмы крови и эритроцитов в онтогенезе человека. Показано, что увеличение хронологического возраста здоровых людей сопровождается усилением некоторых функциональных свойств клеток крови, в частности, их поток-индуцированной агрегации и активации тромбоцитов, интенсификации свободнорадикальных процессов на фоне постепенного становления антиоксидантного потенциала крови. При этом выявлены значительные межвозрастные отличия изучаемых свойств крови. У здоровых людей отмечены возрастные особенности сопряжения реологических свойств крови с показателями ее про- и антиоксидантной активности. Выявлено, что число взаимосвязей различных свойств крови

прогрессивно нарастает с увеличением возраста, причем их количество максимально у взрослых людей, что свидетельствует о постепенном становлении данного сопряжения в онтогенезе.

Практическая значимость базируется на том, что результаты исследования дополняют представления о возраст-ассоциированных изменениях окислительного метаболизма крови (плазмы и эритроцитов) и могут служить нормативами для дальнейших изысканий в данной области. Исследование динамики изменения функциональных свойств клеток крови и ее окислительного метаболизма при ВЗК, а также изучение их взаимосвязей и взаимозависимостей способствует более глубокому пониманию особенностей патологического (воспалительного) процесса в онтогенезе и позволяет предложить способы нормализации выявленных нарушений.

Исследование выполнено на современном методическом уровне, позволяющем говорить о достоверности полученных результатов и обоснованности представленных выводов. Новизна и практическая значимость не вызывает сомнения.

Все основные положения диссертации нашли отражение в автореферате.

По теме диссертации опубликовано 33 научных работы, в том числе 15 – в изданиях, рекомендованных ВАК для опубликования материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 13 – в изданиях, индексируемых международными базами цитирования Web of Science и Scopus), 15 – в иных изданиях и материалах конференций различного уровня, получено 3 патента на изобретение.

В работе встречаются орфографические и стилистические ошибки.

Принципиальных замечаний по диссертационному исследованию Поповичевой А.Н. нет.

Хотелось бы задать диссертанту следующие вопросы:

1. В чем, по Вашему мнению, состоит физиологическое значение взаимосвязи гемореологических характеристик и окислительных процессов в крови?

2. С вашим участием разработан ряд методов для изучения гемореологических показателей. Насколько реально их внедрение в рутинную практику лабораторной диагностики?

3. Насколько специфичны сдвиги окислительного метаболизма, возникающие при воспалительных заболеваниях кишечника по сравнению с другими физиологическими и патофизиологическими состояниями организма?

Заключение. Представленная диссертация Поповичевой Александры Николаевны «Онтогенетические особенности гемостаза, реологии и окислительного метаболизма крови в норме и при патологии (на примере воспалительных заболеваний кишечника)» является законченным, самостоятельно выполненным, научно-квалификационным исследованием, которое содержит решение актуальной физиологической задачи – изучению процессов функционально-метаболического становления системы крови в онтогенезе.

По актуальности, научной новизне, методологии исследования, практическому значению и уровню внедрения диссертация Поповичевой Александры Николаевны полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» ВАК РФ, утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 года в редакции Постановления Правительства РФ №1690 от 26.09.2022 г.), а ее автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

профессор кафедры молекулярной биологии и иммунологии института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
доктор биологических наук, доцент

Иванова

Иванова Ирина Павловна

Адрес: 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корпус 1
Тел.: 8 (831) 462-32-16 e-mail: kmb@bio.unn.ru, ivanova.ip@mail.ru

Подпись доктора биологических наук, доцента, профессора кафедры молекулярной биологии и иммунологии института биологии и биомедицины заверяю

Ученый секретарь Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», к.соц.н.



Черноморская

Черноморская Лариса Юрьевна