

ОТЗЫВ

официального оппонента Виноградовой Ольги Леонидовны на диссертацию Ахапкиной Анны Александровны на тему «Гемореологические профили и микроциркуляция у нормотензивных лиц с разным уровнем артериального давления», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
03.03.01 – физиология

Диссертационная работа А.А. Ахапкиной посвящена исследованию сложных взаимоотношений между показателями, оценивающими состояние сердечно-сосудистой системы на разных уровнях и с разных сторон: системным АД, реологическими свойствами крови и микроциркуляторными показателями. Скоординированная работа этих показателей обеспечивает оптимальное кровоснабжение различных регионов в соответствии с изменяющимися условиями и потребностями данного органа. Нужно подчеркнуть, что реологические показатели не только определяют текучесть крови, но и оказывают регуляторное влияние на микроциркуляцию, например, изменяя число функционирующих капилляров в ткани и, следовательно, ее перфузию. Поэтому в работе поставлена цель изучения реологических показателей, показателей микроциркуляции и транспорта кислорода у людей с разным уровнем артериального давления. Вышесказанное свидетельствует об **актуальности** диссертационной работы А.А. Ахапкиной.

Структура и объем диссертации. Диссертация построена по традиционному образцу, содержит введение, обзор литературы, организацию, материалы и методы исследования, результаты, их обсуждение, выводы, список литературы и список сокращений. Текст изложен на 169 страницах, иллюстрирован 49 таблицами и 46 рисунками.

Библиографический указатель включает 330 источников, 56 отечественных и 274 зарубежных.

Во введении читатель вводится в проблему, дается обоснование выбранного направления исследований, перечисляются основные достижения работы. В подробном и интересном 40-страничном обзоре литературы аккуратно описаны основные микроциркуляторные, гемореологические и реологические показатели и их взаимовлияние. Удачно представлена роль эритроцитов в регуляции сосудистого русла. Заканчивается обзор литературы описанием взаимодействия реологических и микрогемодинамических показателей с артериальным давлением. Обзор демонстрирует хорошее знание диссертантом литературы в основном последних лет и умение анализировать подчас противоречивые данные.

В методическом разделе описана организация исследования, в котором приняли участие мужчины ($n=243$) в возрасте 20-38 лет. Использовались следующие методы: оценка функционального состояния испытуемые в тесте PWC170; оценка микроциркуляции (биомикроскопия ногтевого ложа и бульбарной конъюнктивы), лазерная доплеровская визуализация кровотока в микрососудах кожи передней поверхности предплечья, оценка реологических свойств крови (кажущейся вязкости крови, плазмы и суспензии эритроцитов при 6 скоростях сдвига, определение гематокрита, оценка агрегации эритроцитов, их деформируемости); гематологические и биохимические исследования плазмы; оценка влияния гормональных, паракринных и аутокринных регуляторов на микрореологические свойства эритроцитов. Статистическая обработка данных проводилась в случае нормального распределения с помощью t-критерия Стьюдента, в остальных случаях – с помощью критериев Манна-Уитни и Вилкоксона. Рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Освоение большого количества методов свидетельствует о достаточной квалификации диссертанта для выполнения объемных и многоцелевых исследований в выбранной области.

В разделах результаты и их обсуждение приведены интересные данные, безусловно имеющие самостоятельную ценность, о существенных различиях в реологических и микроциркуляторных показателях у здоровых людей, различающихся уровнем АД. Оказалось, что у людей с умеренно повышенным (в пределах нормальных значений) уровнем АД наблюдается снижение максимального потребления кислорода – показателя аэробных возможностей организма, при этом гематологические показатели (Hct, Hb) не изменяются, а вязкость крови, плазмы и агрегация эритроцитов повышаются, расчетная эффективность транспортной функции крови (Hct/ η) снижается. Деформируемость эритроцитов также снижается, однако умеренное повышение вязкости среды должно способствовать более эффективной передаче сдвигового напряжения на эритроциты и таким образом компенсировать снижение их собственной деформируемости. На уровне микроциркуляции наблюдается снижение плотности капилляров и микрососудистой перфузии кожи предплечья, обнаруживается отрицательная корреляция вязкости крови и ФПК.

При умеренно сниженном АД происходят противоположно направленные изменения реологических показателей меньшей выраженности: снижение вязкости крови, плазмы и агрегации эритроцитов, деформируемость эритроцитов при этом практически не меняется. На основании этих данных можно прогнозировать увеличение текучести крови в крупных сосудах. Ситуация с микрососудами сложнее. Ток крови в них в значительной степени определяется деформируемостью эритроцитов. Она в свою очередь зависит как от внешних факторов (давление, вязкость) так и от способности к деформации самих эритроцитов. В данном случае можно говорить о том, что дефицит внешних деформирующих факторов не компенсирован собственной способностью эритроцитов к деформации. На основании корреляционных соотношений сделан вывод о том, что у группы с умеренно сниженным АД вязкость крови в большей степени зависит от вязкости плазмы, чем от гематокрита, в то время как у людей с оптимальным

уровнем давления соотношение обратное. Это наблюдение особенно интересно, поскольку вязкость плазмы определяет напряжение сдвига на сосудистой стенке, выделение NO и последующую вазодилатацию.

Большая часть работы посвящена анализу влияния на реологические свойства эритроцитов эндо- и паракринных регуляторов сосудистого тонуса. Оказалось, что под действием этих веществ изменяются деформируемость, текучесть и агрегация эритроцитов. Наиболее сильные изменения зарегистрированы при 15-минутной инкубации эритроцитов с простагландином E1, инсулином, метапротеренолом. Способность эритроцитов отвечать на внешние стимулы изменением своих реологических характеристик обеспечивает по мнению автора их адаптивное приспособление к изменяющимся метаболическим условиям.

Очень интересными представляются данные об изменениях концентрации АТФ в эритроцитах, связанных с изменениями АД. Известно, что концентрация АТФ в эритроцитах очень высокая (ммоль/л) и при механических воздействиях и гипоксии АТФ может выделяться, и продукты ее распада могут воздействовать на пуриновые рецепторы эндотелия с образованием NO и последующей вазодилатацией. Оказалось, что при умеренно повышенном давлении содержание АТФ в эритроцитах снижено, что по мнению автора может в конечном итоге сказаться на способности сосудистого русла к адаптивным изменениям проводимости. Характерно, что для данной группы получены высокие отрицательные коэффициенты корреляции между концентрацией АТФ в эритроцитах и АД.

Научная новизна работы определяется следующим. В результате проведения комплексного научного исследования с использованием традиционных и современных методических подходов показано, что разным уровням АД соответствуют разные гемореологические профили. В частности, при повышенном уровне АД зарегистрировано снижение текучести крови из-за повышенной вязкости плазмы и агрегации эритроцитов. Эти гемореологические характеристики коррелировали со

сниженным содержанием АТФ в эритроцитах. Кроме того, при повышенном уровне АД зарегистрированы сниженные величины микрососудистой перфузии и количества функционирующих капилляров в коже. При пониженном уровне АД наблюдаются менее выраженные изменения в противоположном направлении. Проведен анализ изменений микрореологических свойств эритроцитов под влиянием эндокринных (адреналин, агонисты адренорецепторов, инсулин), паракринных (простагландины Е1 и Ф2, аденозин) и аутокринных (АДФ) регуляторов.

Работа А.А. Ахапкиной имеет несомненную **теоретическую и практическую ценность**. Показано, что в популяции молодых здоровых людей можно выделить группы с пониженным и повышенным уровнем АД. Группа с пониженным давлением характеризуется сниженной вязкостью крови за счет снижения вязкости плазмы и агрегации эритроцитов. Концентрация АТФ в эритроцитах у этой группы повышена и положительно связана с функциональной плотностью капилляров. В группе с повышенным АД наблюдаются сниженные ФПК и микрососудистая перфузия в коже, более высокие вязкость крови, плазмы и агрегация эритроцитов, снижение содержания АТФ в эритроцитах. Таким образом, расширены наши представления о соотношении и взаимосвязи системных характеристик кровообращения и его микрореологических и микроциркуляторных характеристик. Установлены соединения, положительно влияющие на микрореологию эритроцитов и уточнена роль продуцируемого эритроцитами АТФ. Полученные в исследовании данные могут быть в будущем использованы для совершенствования подходов к диагностике нарушений микроциркуляции и гемореологии.

Степень обоснованности и достоверность работы определяются тем, что она выполнена на высоком научном и методическом уровне с применением адекватных методов исследования и статистического анализа.

Выводы сформулированы четко и отражают основное содержание работы. Единственная претензия к выводам: аккуратней, на мой взгляд, было бы не делать переноса с данных по микроциркуляции в коже на всю систему.

Автореферат в сжатом виде и без искажений представляет все основные результаты работы. В опубликованных статьях и тезисах (всего 15) полностью представлены все результаты диссертационной работы. Таким образом, результаты работы являются достоверными.

Замечания по диссертационной работе

Проведена большая работа по многосторонней оценке изменений реологических и микроциркуляторных показателей крови здоровых людей в зависимости от уровня артериального давления. Проведен тщательный анализ полученных данных, их сопоставление с имеющимися в литературе сведениями, однако до общей картины мира пока что далеко. В этой связи хочется высказать несколько полемических замечаний, не умаляющих ценность проведенного исследования.

Объект исследования – человек. Это и хорошо и плохо одновременно. Хорошо, потому что не нужно экстраполировать с одного вида на другой, рискуя промахнуться. Плохо, потому что возможности анализа существенно ограничены. Автор справедливо считает, что для полной характеристики явления помимо регистрации показателей в покое необходимо возмущающее воздействие. В качестве такового выбрана физическая работа на велоэргометре, т.е. воздействие адресовано мышцам нижних конечностей. При этом регистрируются показатели микроциркуляции в коже предплечья, потому что в другом регионе это исследование не организуешь. Известно, что ситуация с региональным кровоснабжением зависит от сочетания центральных и местных факторов, влияющих на тонус сосудов, а они принципиально различается в разных органах. Поэтому на основании микроциркуляторных изменений, полученных в одном, не главном с точки зрения реагирования на предъявленный стимул, регионе делать заключения о соотношении изменений микроциркуляции и центральных

гемодинамических показателей опасно. Выходов из ситуации два: исследовать другие регионы сопоставить изменения в них между собой, или ограничить обсуждение исследуемым регионом.

В работе есть мелкие недочеты. 1. Лучше не проводить корреляционное сопоставление данных, полученных одно из другого, например, эффективность транспорта (Hct/η) и вязкость (η). Получаются ложно завышенные связи. 2. В тексте и таблицах данные представлены в виде $M \pm \delta$. Однако на некоторых рисунках «усы» слишком короткие для δ , по-видимому, вместо нее приведены значения m . Однако эти мелкие замечания не умаляют общей положительной оценки работы.

Заключение. Диссертационная работа А.А. Ахапкиной является объемным комплексным исследованием гемореологического профиля и микроциркуляции у людей с различным уровнем артериального давления. Обнаружено, что небольшие, в пределах нормы, изменения в уровне артериального давления сопровождаются заметными изменениями вязкости плазмы, крови, агрегации и деформируемости эритроцитов. Сделан подробный анализ изменений микрореологических свойств эритроцитов под влиянием эндокринных, паракринных и аутокринных регуляторов. На основании полученных данных автор делает вполне обоснованные предположения о роли эритроцитарного АТФ как регулятора сосудистого тонуса при колебаниях артериального давления.

Несмотря на сделанные замечания полагаю, что методическому уровню, новизне и научно-практической значимости результатов исследования диссертационная работа

А.А. Ахапкиной соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присвоении ученых степеней ВАК РФ», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, а ее

автор – Ахапкина А.А. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Заведующая лабораторией
физиологии мышечной деятельности
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Государственного научного
центра Российской Федерации – Института
медико-биологических проблем РАН,
д.б.н., проф. Виноградова Ольга Леонидовна



Подпись О.Л. Виноградовой заверяю
Ученый секретарь ГНЦ РФ – ИМБП РАН
д.б.н. М.А. Левинских



03.03.2016 г.

Сведения об официальном оппоненте
по диссертационной работе Ахапкиной Анны Александровны
на тему «Гемореологические профили и микроциркуляция у нормотензивных
лиц с разным уровнем артериального давления», представленной на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
03.03.01 – физиология

Фамилия, имя, отчество оппонента	Виноградова Ольга Леонидовна
Год рождения, гражданство	27.01.1947, Российская Федерация
Ученая степень и отрасль науки	Доктор биологических наук, специальность – физиология
Полное название организации, являющейся основным местом работы оппонента	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем Российской академии наук
Занимаемая должность	Профессор, заведующая лабораторией физиологии мышечной деятельности
Почтовый адрес, индекс	123007, г. Москва, Хорошевское шоссе 76 А.
Телефон	8 499 195 6807
Адрес электронной почты	ovin@imbp.ru
Список основных публикаций официального оппонента по профилю диссертации в рецензируемых изданиях за последние 5 лет	1. Боровик, А. С. Оценка функциональных возможностей и подбор тренировочных нагрузок для мышц плечевого пояса в лыжном спорте / А. С. Боровик, Д. В. Попов, В. Г. Фадин, И. В. Кузьмин, А. П. Шарова, О. Л. Виноградова // Авиакосм. и эколог. мед. – 2015. – Т. 6. – С. 61-63. 2. Sofronova, S. I. Spaceflight on the Bion-M1 Biosatellite Alters Cerebral Artery Vasomotor and Mechanical Properties in Mice / S. I. Sofronova, O. S. Tarasova, D. Gaynullina, A. A. Borzykh, B. J. Behnke, J. N. Stabley, D. J. McCullough, J. J. Maraj, M. Hanna, J. M. Muller-Delp, O. L. Vinogradova, M. D. Delp // J. Appl. Physiol. – 2015. – Vol. 118. – P. 830–838.

3. Кузнецов, С.Ю. Определение аэробно анаэробного перехода по интенсивности ЭМГ и данным инфракрасной спектроскопии работающей мышцы / С. Ю. Кузнецов, Д. В. Попов, А. С. Боровик, О. Л. Виноградова // Физиология человека. – 2015. – Т 41, № 5. – С. 108–113.
4. Попов, Д. В. Влияние длительности однократной аэробной нагрузки на регуляцию митохондриального биогенеза в скелетной мышце тренированных людей / Д. В. Попов, Е. А. Лысенко, Т. Ф. Миллер, А. В. Бачинин, Д. В. Перфилов, О. Л. Виноградова // Физиология человека. – 2015. – Т. 41, № 3. – С. 82–89.
5. Andreev-Andrievskiy, A. A. Stress-associated cardiovascular reaction masks heart rate dependence on physical load in mice / A. A. Andreev-Andrievskiy, A. S. Popova, A. S. Borovik, D. V. Tsvirkun, O. L. Vinogradova, M. Custaud, O. N. Dolgov // Physiology & Behavior. – 2014. – Т. 132. – С. 1-9.
6. Popov D. V., Promoter-specific regulation of PPARGC1A gene expression in human skeletal muscle / D.V. Popov, E. A. Lysenko, T. F. Vepkhvadze, N. S. Kurochkina, P. A. Maknovskii, O. L. Vinogradova // Journal of Molecular Endocrinology – 2015 – V. 55. – P. 159–168
7. Andreev-Andrievskiy A, Mice in Bion-M 1 Space Mission: Training and Selection / Andreev-Andrievskiy A, Popova A, Boyle R, Alberts J, Shenkman B, Vinogradova O., Dolgov O., Anokhin K., Tsvirkun D., Soldatov P., Nemirovskaya T., Ilyin E., Sychev V. // PLoS ONE – 2014 – V.9 - #8 - e104830
8. Popov DV., The influence of resistance

exercise intensity and metabolic stress on anabolic signaling and the expression of myogenic genes in skeletal muscle / D.V. Popov, EA. Lysenko, AV. Bachinin, TF. Miller, NS. Kurochkina, IV. Kravchenko, VA. Furalyov, OL. Vinogradova // Muscle and Nerve. – 2015 - Т. 51. - № 3.- С. 434-442

9. Салтыкова М.М., Изменения амплитуды зубцов комплекса QRS на ЭКГ и легочной вентиляции при нагрузочном тестировании практически здоровых лиц /Салтыкова М.М., Миллер Т.Ф., Боровик А.С., Попов Д.В., Виноградова О.Л. // Функциональная диагностика – 2013. - № 1. - С. 32-38

10. Тарасова О.С., Динамика изменений частоты сокращений сердца у крыс при ступенчатом изменении скорости бега на тредбане /Тарасова О.С., Борзых А.А., Кузьмин И.В., Боровик А.С., Лукошкова Е.В., Шарова А.П., Виноградова О.Л., Григорьев А.И. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова – 2012 - том 98. - № 11.- с. 1372-1379

Заверяю:



Ученый секретарь

М.А. Левченских ФИО

03.03.2016 г.

Отзыв
официального оппонента на диссертацию
Ахапкиной Анны Александровны «Гемореологические
профили и микроциркуляция у нормотензивных лиц с разным
уровнем артериального давления» на соискание ученой
степени кандидата биологических наук (03.03.01 – физиология)

Актуальность работы. В основе функционирования многокомпонентной системы крови лежит основной принцип живой системы – устойчивость при постоянной динамической ее изменчивости. Эффективность кислородотранспортной функции крови координируется механизмами, обеспечивающими необходимый уровень системной гемодинамики, регионарного кровотока, микроциркуляции и комплекса реологических характеристик крови, что согласуется с принципом множественности и надежности в обеспечении тонкой регуляции гомеостаза. Причем реологические свойства крови являются посредниками между двумя физиологическими системами: гемодинамической и гемокоагулирующей. На практике изменения реологических свойств крови становятся звеном патогенеза, которое реализует клинические проявления внутрисосудистых нарушений кровотока. Интерес к гемореологическим исследованиям клиницистов, биологов, биофизиков обусловлен ролью нарушений реологических свойств крови в патогенезе многих заболеваний и слабой разработкой проблемы. В частности, базовой гемодинамической характеристикой системы кровообращения является артериальное давление, исходные величины которого необходимы для понимания взаимосвязи системной гемодинамики, микроциркуляции и гемореологии крови. При этом первичным звеном в регуляции кровяного давления выступают внутрисосудистые (реологические) изменения цельной крови и микрореология эритроцитов. В этой связи работа А.А. Ахапкиной, посвященная комплексному изучению показателей микроциркуляции, гемореологии и транспорта кислорода у лиц с разным уровнем артериального давления, является актуальной и соответствует специальности 03.03.01- физиология.

Несомненная **научная новизна работы**, заключающаяся в том, что с использованием современных и точных методов изучены параметры микроциркуляции, гемореологии и эффективности метаболизма кислорода у лиц с разным уровнем артериального давления, определены корреляции большого числа характеристик гемореологического профиля, показателей микроциркуляции и величин артериального давления. Автором получены новые данные о параметрах микроциркуляции, гемореологии и эффективности метаболизма кислорода у лиц с относительно низким и высоким артериальным давлением. Впервые с помощью метода лазерной доплеровской визуализации получены данные, характеризующие

микрососудистую перфузию и плотность функционирующих капилляров у лиц с низким, на уровне медианы и повышенным уровнем артериального давления. Выявлен ряд корреляций между уровнем АТФ в эритроцитах, параметрами микроциркуляции, гемореологии и показателями артериального давления. Автором проведен комплексный детальный анализ изменений микрореологических свойств эритроцитов под влиянием ряда вазоактивных соединений с разным типом реализации внеклеточных молекулярных сигнальных путей, включая эндокринный (адреналин, агонисты его рецепторов, инсулин), паракринный (простагландины Е1 и Ф2, аденозин) и аутокринный (АДФ).

Высока теоретическая и практическая значимость результатов исследования. Выполненное исследование содержит сведения о гемореологическом профиле здоровых лиц одного возраста, имеющих артериальное давление в пределах нормальных величин, которые статистически обоснованно выделены в группы с пониженным артериальным давлением, с артериальным давлением на уровне медианы выборки и с давлением на верхней границе нормы. Материалы диссертации расширяют представления о взаимосвязи макро- и микрореологических характеристик крови с параметрами микроциркуляции, о механизмах изменений, а также о корреляции с показателями артериального давления. Систематизированы данные о прямых регуляторных воздействиях вазоактивных сигнальных молекул эндо-, пара- и аутокринной природы на микрореологическое поведение эритроцитов.

Необходимость подобного рода исследования обусловлена как теоретическим (анализ и оценка механизмов, лежащих в основе регуляторных реакций гомеостатической системы крови), так и практическим (выявление информативных критериев нарушений на системном и клеточном уровне, разработка эффективных мер повышения адаптационных возможностей организма) интересом. Полученные данные имеют важное практическое значение, поскольку гемореологические нарушения лежат в основе патогенеза различных состояний и их коррекция требует понимания физиологических механизмов, а также обуславливает характер и выбор методов терапии.

Степень обоснованности научных положений и выводов, изложенных в диссертации, определяется большим объемом экспериментального материала, полученного с применением различных физиологических методов анализа, а также с использованием современных методов биомикроскопии, лазерной доплеровской визуализации и соответствующего оборудования.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, поскольку при исследовании гемореологического профиля и микроциркуляции у лиц с разным уровнем артериального давления использованы современные методики и сертифицированное высокоточное отечественное и зарубежное оборудование (аппарат лазерной доплеровской

визуализации Easy-LDI, Швейцария), соответствующие компьютерные программы обработки и анализа изображений. Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием современной компьютерной программы Statistica 6.0. и не вызывает сомнений в их достоверности. Диссертационное исследование соискателя является результатом самостоятельной работы.

Общая характеристика работы

Диссертация имеет традиционную структуру, изложена на 169 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, главы результаты собственных исследований и их обсуждение, выводов, списка литературы, включающего 330 источников, из которых 56 отечественных и 274 зарубежных. Работа иллюстрирована 49 таблицами и 46 рисунками.

Во введении автор грамотно обосновывает актуальность темы избранного исследования, формулирует цель и задачи работы. Изложена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы достаточно полно отражает современное состояние проблемы. В соответствии с темой исследования проанализированы работы авторов, отражающие различные аспекты взаимосвязи гемореологии и микроциркуляции, участие различных факторов, таких как вязкость, гематокрит, агрегация и деформируемость эритроцитов в изменении гемореологических характеристик крови. Несомненным достоинством обзора литературы является подробный анализ работ, посвященных эритроцитам, выступающим в качестве регуляторов сосудистого тонуса. Следует отметить высокую информативность раздела 1.9 в котором представлен анализ работ о связи реологических свойств крови и микрогемодинамики в условиях повышенного артериального давления. Обзор литературы написан четко, логично и рассматривает практически все механизмы и подходы, которые автор использует при проведении экспериментальных работ.

Раздел «Материалы и методы исследования» изложен очень хорошо и логично. Понятно описана организация эксперимента, обосновано распределение добровольцев на группы по величине артериального давления. Исследование выполнено на достаточно большой выборке добровольцев – 243 человека. Выполнено несколько серий экспериментальных исследований: оценка функционального состояния организма в норме и при выполнении проб с физическими нагрузками. Кроме того, изучены гемореологические свойства в покое и при выполнении функциональных проб с физическими нагрузками. Очень важным этапом при проведении экспериментов было выполнение опытов *in vitro* с целью изучения молекулярных механизмов изменения микрореологических свойств эритроцитов. С этой целью автор вполне

обосновано выбрал целый спектр биологически активных веществ эндо- и паракринной природы, проявляющих вазорегуляторную активность.

В работе использованы методы:

- оценки функционального состояния организма (антропометрические показатели, жизненная емкость легких, оценка состояния сердечно-сосудистой системы);
- исследования микроциркуляции (биомикроскопия сосудов ногтевого ложа, конъюнктивальная биомикроскопия, лазерная доплеровская визуализация);
- регистрации реологических свойств крови (измерение вязкости крови, плазмы и суспензий эритроцитов, оценка гематокритной величины крови, фотометрический метод оценки агрегации эритроцитов, измерение деформируемости эритроцитов);
- фотометрические методы измерения концентрации глюкозы, глицерина, общего белка, триглицеридов, общей концентрации АТФ в эритроцитах, концентрации гемоглобина;
- измерение общей концентрации АТФ в эритроцитах.

В главе приведено подробное описание методов измерения кажущейся вязкости цельной крови, плазмы и суспензий эритроцитов с использованием полуавтоматического капиллярного вискозиметра, разработанного научным руководителем автора работы, д.б.н., проф. А.В. Муравьевым, дано подробное описание метода измерения и его аналитических возможностей. Детально описаны фотометрические методы оценки процесса агрегации эритроцитов, биохимические исследования свойств плазмы. Подробное изложение использованных материалов и методов существенно расширяет круг специалистов, которые смогут использовать предложенные методы в своих исследованиях.

Автор умело использует методы статистической обработки экспериментальных данных, профессионально и обосновано излагает условия использования критерия Стьюдента для описания данных, имеющих нормальное распределение и непараметрических критериев Манна-Уитни и Вилкоксона при отсутствии нормального распределения признака. Анализ взаимосвязи данных выполнен по коэффициентам ранговой корреляции Спирмена.

В целом, этот раздел позволяет сделать вывод, что автор владеет современными методами организации проведения физиологического эксперимента, хорошо в них разбирается и умеет статистически обрабатывать результаты многочисленных экспериментов.

В разделе **«Результаты собственных исследований»** подробно изложены данные, полученные в результате проведенных экспериментов. В главе представлено множество информативных рисунков и таблиц. Автором проведена большая работа, позволяющая оценить показатели микроциркуляции и реологических свойств крови в норме и, при выполнении группами испытуемых, проб с физическими нагрузками.

Установлено, что у лиц с величиной артериального давления на уровне медианы комплекс гематологических, гемореологических и микроциркуляционных показателей обеспечивал эффективную адаптацию к физическим нагрузкам, сохраняя достаточно высокий аэробный потенциал организма. При анализе комплекса функциональных характеристик системы крови у лиц с пониженным уровнем артериального давления, автором выявлено развитие компенсаторных механизмов, направленных на сохранение текучести крови, за счет низких величин вязкости крови, плазмы и гематокрита. Выполнив детальный корреляционный анализ полученных параметров гемореологического профиля у лиц с пониженным артериальным давлением, автором доказано, что в данном случае текучесть цельной крови и ее транспортный потенциал в большей степени зависит не от гематокрита, а от вязкости плазмы. Несомненно важными для практических целей являются результаты, полученные автором при исследовании группы лиц с повышенным артериальным давлением, для которых доказано, сочетание повышенного давления со снижением текучести крови как на уровне микро-, так и микроциркуляции, высокая вязкость крови из-за прироста вязкости плазмы. Кроме того, выявлено снижение микрососудистой перфузии, как в состоянии покоя, так и при физической нагрузке.

Особый интерес представляет изложение результатов, описывающих молекулярные механизмы изменения микрореологических свойств эритроцитов, которые задействованы в долгосрочной адаптивной перестройке, влияющей на текучесть крови и ее транспортный потенциал на уровне обменных капилляров. Автором доказано, что биологические активные соединения эндо- и паракринной природы, регулирующие сосудистый тонус, оказывают прямое воздействие на деформируемость, текучесть эритроцитов и их агрегацию.

Материалы главы **«Обсуждение результатов»** написаны логично и последовательно, на профессиональном уровне, адекватно отражает представленные результаты, имеют выраженную научно-прикладную направленность, что нашло отражение в обсуждениях и выводах и представляет несомненный интерес для специалистов, занимающихся схожими проблемами в области гемореологии и микроциркуляции. На основе полученных фактов автором предложена обобщающая схема, демонстрирующая соотношение различных регуляторных путей, включающих участие гемореологических и сосудистых характеристик.

Несмотря на отмеченные явные положительные стороны в работы, при рассмотрении возникли отдельные **замечания**, имеющие дискуссионный и рекомендательный характер.

1. На с. 58 диссертации в разделе «2.8. Исследование механизмов изменения микрореологических свойств эритроцитов» следует уточнить в каком соотношении (по объему) инкубировали эритроцитарные суспензии с биологически активными веществами (инсулином, адреналином и т.д.).

2. В этом же разделе на С. 59 указано, что «Матричные растворы препаратов готовили в разных растворителях и в том числе в этиловом спирте или в воде». Требуется уточнения, какие конкретно матричные растворы препаратов готовили с использованием этилового спирта, какие с использованием воды. Каковы были концентрации спирта, при приготовлении растворов? Хотелось бы услышать мнение автора, не изменяют ли эти растворители свойства эритроцитарных мембран.

3. Очень интересные результаты получены автором при изучении влияния катехоламинов на микрореологические свойства эритроцитов. На с.103 диссертации указано, «что после инкубации с адреналином в микромолярной концентрации деформируемость эритроцитов увеличилась, но при этом возросла их агрегация», однако в главе «Обсуждение результатов исследования» на с. 128-130 отсутствуют, возможные, механизмы объяснения наблюдаемого феномена. В данном разделе автор очень логично поясняет механизм увеличения деформируемости эритроцитов при стимуляции β_2 -адренорецепторов метапротеренолом, который выбрали в качестве агониста данного типа рецепторов, совершенно обоснованно ссылаясь на их большее присутствие в мембране, чем β_1 -адренорецепторов. Тем не менее, в плане дискуссии хотелось бы знать мнение автора относительно возможных механизмов, лежащих в основе увеличения деформируемости эритроцитов под влиянием адреналина при одновременном увеличении агрегации клеток. «По данным Gomperts B.D. (The plasma membrane: model for structure and function. N.Y., 1977) адреналин уменьшает подвижность жирных кислот липидов мембран эритроцитов человека. В присутствии физиологически активных концентраций (10^{-9} М) адреналина наблюдалось уменьшение фильтруемости и осмотической стойкости эритроцитов крысы и человека [цит. по Черницкий Е.А., Воробей А.А. Структура и функции эритроцитарных мембран. Минск: Наука и техника, 1981.с. 169].

4. Хотелось бы знать мнение автора относительно направленности компенсаторно-приспособительных реакций, протекающих в микроциркуляторном русле и направленных на поддержание аэробного потенциала у лиц с повышенным и пониженным артериальным давлением в ответ на дозированную физическую нагрузку. Есть ли существенные различия между указанными группами лиц, и по какому пути идет адаптация в нагрузке?

5. Замечание по оформлению работы: в некоторых местах диссертации и автореферата, на наш взгляд, неудобно расположены в тексте рисунки и таблицы: в частности на с. 84 диссертации дается ссылка на табл. 23, после которой следует рис. 23, а сама таблица 23, идет на с. 85. Такая композиция встречается и на некоторых последующих страницах текста диссертации.

В целом, высказанные замечания не носят принципиального характера и не меняют общей положительной оценки работы. Вынесенные на защиту

научные положения обоснованы и соответствуют поставленным задачам и целям. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации, выводы являются обоснованными, вытекают из содержания работы, логичны и соответствуют поставленным задачам.

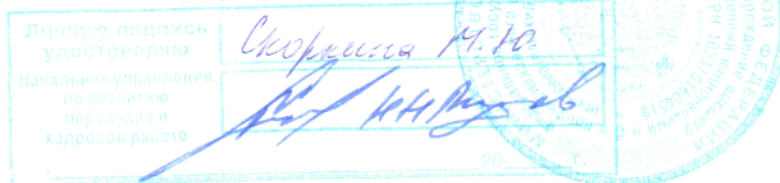
Заключение

По совокупности основополагающих признаков диссертационная работа Ахапкиной Анны Александровны «Гемореологические профили и микроциркуляция у нормотензивных лиц с разным уровнем артериального давления», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, представляет собой научное исследование, которое содержит новое решение актуальной задачи в области физиологии, а также расширяет и дополняет современные знания о механизмах регуляции гомеостатических параметров внутренней среды организма. По актуальности, поставленным целям и задачам, объему проведенных исследований, новизне полученных результатов, их научной и практической значимости, методическому уровню исследований, достоверности полученных результатов, обоснованности выводов и положений, выносимых на защиту, выполненная диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ № от 24.09.2013 г.), а ее автор заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Официальный оппонент:

Скоркина Марина Юрьевна,
доктор биологических наук, доцент,
доцент кафедры экологии, физиологии и
биологической эволюции института инженерных
технологий и естественных наук
ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный
национальный исследовательский университет»
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85
раб. тел. (4722)30-11-63
моб. тел. 89202087007
e-mail: skorkina@bsu.edu.ru

25.02.2016



Сведение об официальном оппоненте
по диссертационной работе Ахапкиной Анны Александровны
на тему «Гемореологические профили и микроциркуляция у нормотензивных
лиц с разным уровнем артериального давления», представленной на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
03.03.01 – Физиология

Фамилия, имя, отчество оппонента	Скоркина Марина Юрьевна
Год рождения, гражданство	1977, Российская Федерация
Ученая степень и отрасль науки	Доктор биологических наук
Полное название организации, являющейся основным местом работы оппонента	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
Занимаемая должность	Доцент кафедры экологии, физиологии и биологической эволюции
Почтовый адрес, индекс	308015, Российская Федерация, г. Белгород, ул. Победы, д. 85.
Телефон	(4722) 30-11-63; 89202087007
Адрес электронной почты	marisha_skorkina@yahoo.com
Список основных публикаций официального оппонента по профилю диссертации в рецензируемых изданиях за последние 5 лет	1. Сладкова, Е.А. Морфофункциональные особенности клеток крови в условиях опухолевого роста / Е.А. Сладкова, М.Ю. Скоркина, Н.А. Забияков // Биомедицина, 2013. – № 3. – С. 67-73. 2. Скоркина, М. Ю. Влияние нанодисперсных форм железа на морфофункциональные параметры системы крови / М. Ю. Скоркина, А. И. Везенцев, М. З. Федорова, В. В. Симонов, И. Л. Канев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 4. – С. 483-486.

	3. Сладкова, Е.А. Морфофункциональные особенности клеток крови в условиях опухолевого роста / Е.А. Сладкова, М.Ю. Скоркина // Цитология. – 2013. - № 3. – С. 67-73. 4. Сладкова, Е.А. Оценка поверхностного потенциала лимфоцитов больных лейкозом методом зонда кельвина / Е.А. Сладкова, М.Ю. Скоркина // Биофизика. – 2014. – Т.59. – Вып. 2. – С. 310-313. 5. Skorkina, M.Y. Use of plasmalemma reserve by lymphocytes for osmotic stress tests in vitro / M.Yu. Skorkina // Research J. of Pharmaceutical, biological and chemical sciences. – 2014. - V. 5(5). – P. 1771- 1773. 6. Skorkina, M.Yu. Cell architectonics and surface properties of normal lymphocytes and lymphoblastic cells from patients with chronic lymphoid leukemia in the condition of activation and blockade of elements adenylate cyclase signaling pathways / M.Yu. Skorkina, O.V. Cherkashina, E.A. sladkova, T.A. Pogrebnyak, E.V. Zubareva, O.V. Vorobjeva, E.A. Lipunova, S.V. Nadezhdin // Research J. of Medical Science – 2015. - V. 9(4). – p. 218-220.
--	---

Заверяю:

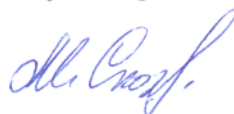
Официальный оппонент:

доцент кафедры экологии, физиологии и биологической эволюции института инженерных технологий и естественных наук

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

доктор биологических наук,

доцент



Скоркина Марина Юрьевна

Адрес: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

моб. тел. 89202087007

e-mail: skorkina@bsu.edu.ru

