

ОТЗЫВ

официального оппонента о научно-практической значимости диссертационной работы Кречетовой Любови Валентиновны на тему: «Формирование толерантности к аллоантигенам плода на ранних сроках беременности в норме и при привычном выкидыше», представленной к защите в диссертационный совет Д.208.046.02 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология

Актуальность темы исследования

Медицинская и социальная значимость проблемы невынашивания беременности, ее влияние на показатели перинатальной заболеваемости и смертности, а также на репродуктивное здоровье женщин ставит научные и клинические исследования в этой области в ряд важнейших задач здравоохранения. Повторяющиеся спонтанные потери беременности на ранних сроках у 1-5 % пар связывают с нарушениями иммунных реакций матери на антигены плода отцовского происхождения, то есть с аллоиммунными причинами.

Несмотря на большое количество опубликованных работ по проблеме аллоиммунных нарушений, до сих пор не получен ответ на вопрос: какие же иммунные механизмы могут приводить к нарушениям гестационных процессов. Практически не изученной остается проблема терапии иммунологических нарушений. Именно поэтому большое значение имеют данные, характеризующие соотношение различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток, продукцию ими цитокинов и гуморальных факторов при физиологической беременности и идиопатическом спонтанном выкидыше.

Изложенное выше подтверждает, что диссертационная работа Кречетовой Любови Валентиновны, целью которой является выявление ключевых маркеров формирования толерантности при иммунокоррекции привычной потери беременности ранних сроков, является крайне актуальной и современной.

Научная новизна исследования

Научная новизна исследования и полученных результатов не вызывает сомнений.

Впервые установлено, что иммуноцитотерапия (аллоиммунизация) приводит к формированию провоспалительной направленности иммунных реакций на ранних сроках беременности у женщин с идиопатическим привычным выкидышем.

Впервые показано, что сниженная доля Т-лимфоцитов с фенотипом $CD4^+CD25^{high}$ и экспрессией транскрипционного фактора ROR γ t, обеспечивающих развитие воспалительных процессов, на ранних этапах гестационного процесса свидетельствует о высокой вероятности выкидыша на фоне проведения аллоиммунизации.

Впервые обнаружено усиление экспрессии маркера ранней активации лимфоцитов CD69 на поверхности Т-лимфоцитов ($CD4^+$ и $CD8^+$), но не NK-клеток в периферической крови на ранних этапах гестационного процесса у пациенток с выкидышем, что указывает на важную роль активированных Т-лимфоцитов в распознавании антигенов развивающегося плода и на возможность использования оценки содержания активированных Т-лимфоцитов в качестве прогностического фактора последующего выкидыша.

Впервые с помощью использования маркера ранней активации лимфоцитов CD69 для оценки блокирующей активности аутологичной сыворотки показана динамика неспецифической иммуносупрессии у женщин с пролонгированной беременностью, которая заключается в высокой блокирующей активности в первом и третьем триместрах и низкой – во втором триместре, при этом в первом триместре срок 8-9 недель характеризуется минимальной блокирующей

активностью в гестационном периоде в целом:

Впервые показана динамика Th1/Th2-баланса цитокинов, продуцируемых *in vitro* лимфоцитами периферической крови женщин с пролонгированной беременностью, а именно: на ранних стадиях и в конце беременности преобладают воспалительные реакции, сдвиг в сторону противовоспалительной направленности реакций наблюдается в средние сроки гестации.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Положения, выносимые на защиту, соответствуют поставленной цели и отражают суть выполненной работы.

Автором показано, что состояние иммунной системы пациенток с идиопатическим привычным выкидышем вне беременности характеризуется высоким содержанием лимфоцитов с киллерной и цитотоксической направленностью, низким уровнем Трег клеток, высокой долей ROR γ t⁺-клеток среди Трег клеток, повышенным уровнем сывороточных супрессивных факторов, снижающих способность лимфоцитов отвечать на поликлональный стимул *in vitro*, преобладанием продукции цитокинов Th2-типа.

Одновременно выявлено, что предгестационная аллоиммунизация не меняет субпопуляционный состав и способность лимфоцитов пациенток отвечать на поликлональный стимул, однако регистрация высокого уровня антиотцовских антилейкоцитарных антител свидетельствует о способности отвечать на специфический стимул – лейкоцитарные антигены партнера.

Кроме того, исходный низкий уровень NK-клеток, дальнейшее снижение их уровня после предгестационной аллоиммунизации и низкий их уровень в 5-6 недель гестации у женщин, потерявших данную беременность, в сочетании с низким уровнем блокирующей активности аутологичной сыворотки и с низкой долей ROR γ t⁺T-регуляторных клеток периферической крови на фоне аллоиммунизации, свидетельствуют о дисбалансе иммунных реакций у женщин с

выкидышем, препятствующем формированию толерантности к аллоантигенам плода в ранние сроки гестации.

При этом показано, что отсутствие различий в уровне активации NK-клеток в 5-6 недель гестации у пациенток с пролонгированной беременностью и с выкидышем, нормальные показатели субпопуляционного состава лимфоцитов и активации NK-клеток у пациенток в 12 недель пролонгированной беременности, вместе с данными об отсутствии изменений иммунологических параметров после предгестационной аллоиммунизации, проведенной в качестве монотерапии, указывают на значимость взаимосвязи иммунных реакций с гормональными сигналами в ранние сроки гестации и на вероятность их нарушений у пациенток с выкидышем, препятствующих формированию толерантности к аллоантигенам плода.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные автором данные существенно расширяют представления о роли иммунной системы в патогенезе идиопатического спонтанного выкидыша. Показано, что успех пролонгирования беременности у данной категории женщин связан с формированием провоспалительного состояния иммунной системы в ранние сроки гестации и с наличием динамики иммунологических показателей как в течение I триместра, так и в течение всего гестационного периода, включая динамику блокирующей активности аутологичной сыворотки и динамику Th1/Th2-баланса цитокиновой продукции митоген-стимулированными лимфоцитами.

Практическая значимость состоит в обосновании оценки содержания в периферической крови пациенток с идиопатическим привычным выкидышем вне беременности субпопуляций с киллерной активностью $CD56^+$, $CD3^-CD56^+CD16^+$ и $CD3^+CD56^+CD16^+$ в качестве основы для персонифицированного назначения аллоиммунизации в предгестационной подготовке и оценки содержания субпопуляций $CD56^+$, $CD3^-CD56^+CD16^+$, $CD3^-CD16^+$, $CD200^+$, $CD3^-CD8^+$ в 5-6 недель гестации- для персонифицированного назначения аллоиммунизации в

I триместре беременности, а также в выборе оптимального способа определения антиотцовских антилейкоцитарных антител в сыворотке крови женщин с идиопатическим привычным выкидышем и в обосновании достаточности двух процедур иммунизации в предгестационной подготовке

Достоверность и апробации результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Достоверность исследования обусловлена достаточным числом наблюдений, использованием широкого спектра современных иммунологических исследований, а также адекватностью методов статистической обработки данных, позволивших научно обосновать основные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации.

Диссертационная работа обсуждена на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол № 18 от 18 декабря 2017 г.). Материалы работы широко представлены на Всероссийских и международных конгрессах и форумах. Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую работу 2-го акушерского отделения патологии беременности ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России при обследовании и лечении супружеских пар с привычными потерями плода.

По теме диссертации опубликовано 47 научных работ, в том числе 25 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, получено 2 патента РФ на изобретения. Публикации в полной мере отражают основные положения диссертации

Содержание работы, ее завершенность и оформление

Диссертация включает введение, обзор литературы, главу «Материалы и методы исследования», главу с результатами собственных исследований, главу

обсуждения результатов исследования, заключение, выводы и практические рекомендации; содержит 23 таблицы и 46 рисунков. Объем диссертации составляет 247 страниц. В библиографическом указателе 34 работы отечественных и 333-иностранных авторов, всего 367 источников. Диссертация написана хорошим литературным языком. Главы представляют собой самостоятельные разделы исследования, логично связаны между собой.

Во введении раскрывается актуальность исследования, представлены цели и задачи исследования, новизна и научно-практическая значимость работы, основные положения, выносимые на защиту.

В главе 1 представлен обзор основных иммунологических феноменов, отражающих формирование толерантности к аллоантигенам плода в репродуктивных процессах в свете современных представлений. Проведен анализ становления основных направлений изучения толерантности в иммунологии репродукции. Показана ведущая роль иммунных нарушений при идиопатическом привычном выкидыше и его корригирующая иммуноцитотерапия. Из обзора вытекает актуальность цели и задач исследования.

Глава 2 включает характеристику дизайна исследования, материалов и методов, использованных в работе. Методы обследования и статистической обработки данных соответствуют целям и задачам работы.

В главе 3 изложены результаты, полученные лично автором. Детально изложены данные обследования выбранных групп пациенток. Представлен анализ факторов, влияющих на течение беременности: возраст, социально-экономическое положение, экстрагенитальная и гинекологическая патология, особенности течения и исхода предыдущих беременностей. Дана характеристика состояния клеточного звена иммунитета и активационной способности лимфоцитов периферической крови женщин с ИПВ.

Определены особенности продукции цитокинов и уровень антиотцовских антилейкоцитарных антител у женщин с ИПВ в процессе предгестационной аллоиммунизации и в первом триместре наступившей беременности, проведена оценка блокирующего эффекта аутологичной сыворотки.

Глава 4 содержит обсуждение полученных результатов, их интерпретацию и сравнительный анализ с данными других авторов.

В результате проведенного исследования получены данные, свидетельствующие о высокой эффективности проведения иммунизации партнерскими лимфоцитами женщин с ИПВ: у 85,6% пролеченных женщин с установленным идиопатическим привычным выкидышем беременность была пролонгирована и завершилась рождением живого ребенка. Высокая эффективность иммунокоррекции подтверждает успешное формирование толерантности у женщин с пролонгированной беременностью и указывает на зависимость реализации репродуктивной функции от состояния иммунной системы женщины при данном виде акушерской патологии.

В заключении обоснованы основные научные положения. Выводы и практические рекомендации логично вытекают из поставленных задач и соответствуют основным положениям диссертации, полностью отражают результаты исследования. Практические рекомендации сформулированы конкретно и применимы в клинической практике.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.

Автореферат полностью отражает содержание работы, оформление автореферата соответствует общепринятым требованиям.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.03.09–клиническая иммунология, аллергология, результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 1,2,3 области данной специальности.

Замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В порядке дискуссии хотелось бы получить ответ на следующий вопрос:

1) Проводилось ли сравнение показателей, отражающих состояние иммунной системы пациенток с привычным выкидышем при различном числе совпадений по HLA –антигенам и наборе аллелей у супругов?

Вопросы и замечания не носят принципиального характера, не умаляют достоинств работы, и не оказывают значимого влияния на общее положительное впечатление от диссертационной работы в целом.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Любови Валентиновны Кречетовой на тему «Формирование толерантности к аллоантигенам плода на ранних сроках беременности в норме и при привычном выкидыше» является законченным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований осуществлено решение научной проблемы изучения механизмов формирования толерантности к аллоантигенам плода на ранних сроках беременности в норме и при привычном выкидыше и разработаны новые подходы к иммунокоррекции нарушенной толерантности, что имеет важное значение для клинической иммунологии, аллергологии.

Диссертационная работа Любови Валентиновны Кречетовой «Формирование толерантности к аллоантигенам плода на ранних сроках беременности в норме и при привычном выкидыше», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09- клиническая иммунология, аллергология, по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям п. 9 Положения «О присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 года, № 748 от 02 августа 2016 года, № 650 от

29 мая 2017 года, № 1024 от 28 августа 2017 года, № 1168 от 1 октября 2018 года «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемых к диссертациям, на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор Любовь Валентиновна Кречетова заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09- клиническая иммунология, аллергология.

Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского института акушерства и педиатрии федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России), доктор медицинских наук, доцент

21.11.18

Марина Аркадьевна Левкович

Подпись д.м.н., доцента Левкович М.А. заверяю:

Ученый секретарь ученого совета

ФГБОУ ВО РостГМУ д.м.н., доцент



Н.Г. Сапронова

344022, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., 29
Тел.: 8(863)250-42-00, e-mail:okt@rostgmu.ru