

Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Ивановский научно-
исследовательский институт
материнства и детства
имени В.Н.Городкова»
министерства здравоохранения
Российской Федерации
153 731, г.Иваново, ул.Победы, д.20
тел. 33-62-63 факс 33-62-56

«22» 10 2018г. № 1089

«Утверждаю»

Директор ФГБУ «Ивановский научно-
исследовательский институт
материнства и детства им.

Н.В.Городкова»

Минздрава России

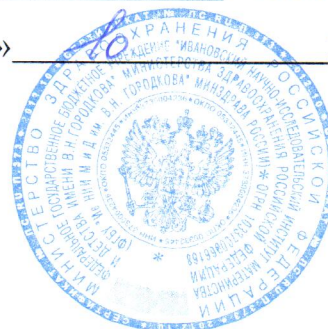
д.м.н., профессор

Малышкина

А.И. Малышкина

«22»

2018 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

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», представленную на соискание ученой степени
доктора медицинских наук по специальности
14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Актуальность темы исследования

В условиях современной демографической ситуации проблема невынашивания беременности – важнейшая акушерская проблема с высокой медико-социальной значимостью. Частота привычного невынашивания беременности на протяжении последних четырех десятилетий остается

стабильно высокой, составляя до 20% от всех планируемых беременностей, и из них до 75-80% потерь приходится на срок до 12 недель гестации, при этом примерно в половине потерь беременности установить причину не удастся. В этом случае предполагают, что невынашивание связано с аллоиммунными причинами, то есть с причинами, обусловленными нарушениями формирования естественной толерантности к антигенам плода отцовского происхождения.

Для снижения активности женской иммунной системы в отношении отцовских антигенов плода на основе положительного опыта использования аллоиммунизации в трансплантологии было предложено использование иммуномодулирующей терапии методом иммунизации женщины лимфоцитами полового партнера (лимфоцитоиммунотерапии, иммуноцитотерапии, или ИЦТ, аллоиммунизации).

Однако до настоящего времени не выработано стандартных подходов к назначению, проведению и оценке эффективности иммунизации. Кроме того, разнообразие иммунных реакций, лежащих в основе формирования толерантности к чужеродным антигенам, а также постоянное появление новых экспериментальных данных, уточняющих механизмы формирования толерантности при беременности, затрудняет выработку подходов к стандартизации данной процедуры.

По данным разных авторов эффективность иммуноцитотерапии очень высока, что свидетельствует об успешном формировании толерантности к отцовским антигенам у пролеченных женщин, однако механизмы влияния иммуноцитотерапии остаются до конца невыясненными.

Все это свидетельствует, что поиск молекулярных и клеточных маркеров аллогенных реакций при нарушениях гестации на ранних сроках беременности с использованием современных методических подходов и в настоящее время является актуальным для установления закономерностей

формирования аллогенной супрессии, выявления ключевых маркеров нарушения формирования толерантности к антигенам плода при самопроизвольном выкидыше и уточнения механизмов высокой эффективности иммуноцитотерапии. Внедрение в клиническую практику мониторинга наиболее прогностически значимых маркеров может существенно повысить эффективность диагностики угрозы прерывания беременности и лечения привычного невынашивания беременности.

Новизна, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Новизна работы несомненна, получены новые данные, уточняющие представления о механизмах влияния иммунотерапии на состояние иммунной системы женщин в прегравидарной подготовке и в I триместре гестации, приводящих к формированию толерантности к аллоантигенам плода и пролонгированию беременности у женщин с данной акушерской патологией. Выявлены прогностические критерии успешного пролонгирования и потери беременности после проведенной иммуноцитотерапии, а также критерии ее назначения в прегравидарной подготовке и в I триместре гестации.

Так, установлено, что иммуноцитотерапия приводит к формированию провоспалительной направленности иммунных реакций на ранних сроках беременности: Th1-типа у женщин с пролонгированной беременностью и Th17-типа у женщин, потерявших беременность. На основе анализа экспрессии маркера ранней активации CD69 и баланса Th1/Th2-цитокинов, продуцируемых *in vitro* лимфоцитами периферической крови, при пролонгированной беременности показано преобладание провоспалительных реакций и высокой блокирующей активности женской сыворотки в первом и третьем триместрах гестации. Впервые показана нормализация в I триместре гестации субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови

после аллоиммунизации у женщин, беременность которых завершилась рождением жизнеспособного ребенка. Впервые показано, что, несмотря на проведение иммуноцитотерапии, снижение интенсивности провоспалительного ответа сочетается с высокой вероятностью выкидыша. Выявлена активация Т-лимфоцитов (CD4+ и CD8+), но не NK клеток. Установлена динамика блокирующей активности сыворотки по триместрам в случаях пролонгирования беременности и продукции Th1/Th2 цитокинов периферическими лимфоцитами *in vitro* у женщин с привычным невынашиванием ранних сроков и пролонгированной беременностью. Показано преобладание воспалительной реакции в начале и конце гестации и противовоспалительной активности в середине беременности. Научная новизна диссертационной работы Кречетовой Л.В. подтверждается также получением патентов РФ на изобретения «Способ определения блокирующего эффекта аутологичной женской сыворотки» (№ 2396566, 10.08.2010); «Способ выявления антиотцовских антител после иммунизации женщин с идиопатическим привычным выкидышем лимфоцитами полового партнера» (№ 2614729, 28.03.2017).

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Диссертационная работа Кречетовой Л.В. выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И.Кулакова» Минздрава России и являлась частью тем «Разработка комплекса высокотехнологичных иммунологических и молекулярно-биологических методов диагностики и лечения репродуктивной патологии» № гос. регистрации 0 20.0 800492; «Изучение молекулярно-биологических и клеточно-иммунологических предикторов формирования патологии гестационного процесса» № гос. регистрации 01201256339; «Изучение диагностической и прогностической роли молекулярно-

генетических, иммунологических, митохондриальных факторов в преждевременных родах и невынашивании беременности» № гос. регистрации АААА-А15-115123110116-1.

Также работа выполнялась в рамках Грантов Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ НШ-366.2012.7 «Молекулярные и клеточные механизмы иммунорегуляции процесса гестации в норме и при потерях беременности ранних сроков» (2012-2013г.г.) и НШ-1694.2014.7 «Молекулярные и клеточные механизмы нарушения и коррекции иммунорегуляции процесса гестации при невынашивании беременности» (2014-2015г.г.).

Значимость для науки и производства полученных автором диссертации результатов

Теоретическая значимость работы вытекает из полученных данных и заключается в оценке баланса про- и противовоспалительных реакций, отражающих состояние иммунной системы женщин с идиопатической формой привычного невынашивания ранних сроков, а также влияние на него иммуноцитотерапии, что ведет к более глубокому пониманию механизмов позитивного влияния этого метода на пролонгирование беременности.

Работа имеет несомненную практическую значимость. В работе дается научное обоснование более широкого использования иммунологического обследования женщин с идиопатическим привычным невынашиванием беременности и персонафицированного назначения иммуноцитотерапии в прегравидарной подготовке женщин, а также в ранние сроки беременности. Выявлены критерии персонафицированного назначения иммуноцитотерапии в лечении идиопатического привычного выкидыша в процессе прегравидарной подготовки, а также в I триместре наступившей беременности. Оптимизированы методологические подходы к иммуноцитотерапии: выбран оптимальный способ определения

антиотцовских антилейкоцитарных антител в сыворотке крови женщин для оценки эффективности аллоиммунизации, обосновано количество процедур иммунизации.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Для женщин с установленным диагнозом идиопатического привычного выкидыша при отсутствии двух и более выношенных беременностей от одного партнера показано проведение прегравидарной подготовки. Перед назначением процедур в прегравидарной подготовке необходимо исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови. В случае отклонения от нормативного уровня содержания лимфоцитов с фенотипом NK- и NKT-клеток, $CD200^+$, $CD3^-CD8^+$, В1-клеток, Т-регуляторных клеток с фенотипом $CD4^+CD25^{high}CD127^{low/-}$ предполагается иммунный генез идиопатического привычного выкидыша и женщинам показано проведение иммуноцитотерапии (аллоиммунизации лимфоцитами полового партнера). При содержании в периферической крови женщин $CD56^+$ лимфоцитов менее 14,6 %, $CD3^-CD56^+CD16^+$ - менее 12,2 %, $CD3^+CD56^+CD16^+$ - менее 8,9 % от иммуноцитотерапии следует воздержаться. Эффективность аллоиммунизации следует оценивать после 2 - х процедур по появлению в периферической крови женщин антиотцовских антилейкоцитарных антител, уровень которых на лимфоцитах с фенотипом $CD3^+$ выше 50 % указывает на достаточность процедур.

Во время беременности в качестве лечебных процедур женщинам с идиопатическим привычным выкидышем показано проведение иммуноцитотерапии в I триместре гестации. При установлении маточной беременности, наступившей после прегестационной аллоиммунизации, в 5 - 6 недель женщинам рекомендуется исследование иммунного статуса. При содержании в периферической крови $CD56^+$ -лимфоцитов менее 10,3 %, $CD3^-$

CD56⁺CD16⁺ - менее 5,8 %, CD3⁻CD16⁺ - менее 3,1 %, CD200⁺ - менее 8,9 %, CD3⁻CD8⁺ - менее 3,4 % от проведения аллоиммунизации в I триместре следует воздержаться. После двух процедур аллоиммунизации в I триместре рекомендуется повторное исследование иммунного статуса женщин. Соответствие субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови нормативным значениям свидетельствует об эффективности проводимой терапии и является благоприятным прогностическим маркером пролонгирования беременности.

Показатели для персонифицированного назначения иммуноцитотерапии внедрены в практическую работу 2-го отделения патологии беременности ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Полученные результаты можно внедрять в практику всех профильных стационарных и амбулаторных учреждений, в которых есть лаборатории клинической иммунологии с современным оснащением и возможность проведения иммуноцитотерапии для лечения привычного невынашивания аллоиммунного генеза.

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

Достоверность положений диссертации подтверждена грамотным методическим построением работы и выбором информативных современных, адекватных целям и задачам методов исследования. Тщательный подбор большого количества пациенток с первичным идиопатическим выкидышем (n=116), выделение группы с пролонгированной беременностью, не потребовавшей медицинской коррекции во втором и в третьем триместрах гестации, делает выводы автора убедительными. Исследование являлось проспективным, обследование пациенток проводилось неоднократно, как в

период прегравидарной подготовки, так и в течение беременности. Иммунологические исследования выполнены с использованием современного поверенного оборудования, сертифицированных реагентов. Результаты подвергнуты адекватному статистическому анализу с применением современных математических программ. Все сформулированные задачи решены, полученные результаты обсуждены и проанализированы с учетом данных литературы. Все вышеизложенное позволяет считать сформулированные в диссертационном исследовании положения, выводы и рекомендации обоснованными.

Результаты работы нашли достаточно полное отражение в публикациях автора. По материалам диссертации опубликовано 45 печатных работ, из них, в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК МО и науки РФ – 23 публикации, получено 2 патента на изобретения. Работа обсуждена на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦАГП МЗ РФ (протокол №18 от 18 декабря 2017 г.). Материалы работы также достаточно широко обсуждены на конференциях и конгрессах различного уровня, включая зарубежный.

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация написана профессиональным, грамотным языком, изложена в традиционной форме. Работа представлена на 247 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, главы собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы. Библиографический указатель включает 34 отечественных и 333 иностранных источника литературы. Однако библиографический указатель содержит очень мало работ последних лет. Работа иллюстрирована 23 таблицами, 46 рисунками.

Считаю целесообразным продолжить работу по изучению иммунопатогенетических аспектов формирования угрозы прерывания беременности при идиопатическом привычном невынашивании и патогенетических основ высокой эффективности метода иммуноцитотерапии.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации и основные результаты научной работы.

Принципиальных замечаний нет. Однако имеется ряд вопросов:

1. Какие все-таки иммунные механизмы, по вашему мнению, определяют высокую эффективность иммуноцитотерапии?

2. Какова будет стоимость персонализированного применения иммуноцитотерапии у женщин с идиопатическим привычным невынашиванием?

Заключение

Диссертационная работа Л.В. Кречетовой на тему «Формирование толерантности к аллоантигенам плода на ранних сроках беременности в норме и при привычном выкидыше», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является законченным научным трудом, в котором решается научная проблема роли иммунологической толерантности в патогенезе идиопатического привычного невынашивания беременности и персонализированного назначения иммуноцитотерапии для его лечения. По актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований работа соответствует требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016г. №335, от 2 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а

ее автор Любовь Валентиновна Кречетова заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология.

Отзыв на диссертацию обсужден и одобрен на заседании сотрудников лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России «18 октября» 2018г., протокол № 3.

д.м.н., профессор,
Заслуженный врач РФ,
зав. лабораторией клинической
иммунологии ФГБУ «Ив НИИ М и Д
им. В.Н. Городкова»
Минздрава России

Наталья Юрьевна Сотникова

Подпись д.м.н. профессора Сотниковой Н.Ю. заверяю
Ученый секретарь
ФГБУ «Ив НИИ М и Д
им. В.Н. Городкова»
Минздрава России, к.м.н.

Екатерина Александровна Матвеева

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20
телефон + 7 (4932) 33-62-63
e-mail ivniimid@inbox.ru,
<http://www.niimid.ru>

