

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.046.02 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 13.12.2018 г. № 3.

О присуждении Кречетовой Любови Валентиновне, гражданке Российской Федерации, степени доктора медицинских наук. Диссертация «Формирование толерантности к аллоантигенам плода на ранних сроках беременности в норме и при привычном выкидыше» по специальности «14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология» принята к защите 04 сентября 2018 г. протокол № 3 диссертационным советом Д.208.046.02 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714/нк «О совете по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 года.

Соискатель Кречетова Любовь Валентиновна, 1958 года рождения, в 1981 году окончила 2-й Московский государственный ордена Ленина медицинский институт им. Н.И. Пирогова по специальности «врач-биохимик».

Кречетова Л.В. 22 года проработала на научных должностях в в/ч 61469 (г. Вольск-18, Саратовская обл.). В 1995 г. защитила кандидатскую диссертацию по специальной теме в диссертационном совете при войсковой части 61469. В 2003 г. прошла переподготовку и получила сертификат специалиста по клинической лабораторной диагностике (диплом о профессиональной переподготовке ПП № 299905). Работает заведующей лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России с 2012 года по настоящее время.

Диссертация выполнена в лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

**Научные консультанты:** Николаева Марина Аркадьевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России;

Тетрашвили Нана Картлосовна, доктор медицинских наук, заведующая 2-м акушерским отделением патологии беременности ФГБУ «Национальный медицинский

исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

**Официальные оппоненты:** - доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации Малиновская Валентина Васильевна, заведующая лабораторией онтогенеза и коррекции системы интерферона ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России;

- доктор медицинских наук, член-корр. РАН Свитич Оксана Анатольевна, заведующая лабораторией молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» (с 16 октября 2018 г. директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»);

- доктор медицинских наук, доцент Левкович Марина Аркадьевна, ведущий научный сотрудник отдела медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии научно-исследовательского института акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России - дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** - Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в своем положительном отзыве, подписанном Сотниковой Натальей Юрьевной, доктором медицинских наук, профессором, заслуженным врачом Российской Федерации, заведующей лабораторией клинической иммунологии, и утвержденном Малышкиной Анной Ивановной, доктором медицинских наук, профессором, директором института, указала, что диссертация Кречетовой Любови Валентиновны 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 завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в развитии перспективного направления в клинической иммунологии, аллергологии по изучению иммуно-патогенетических аспектов формирования угрозы прерывания беременности при идиопатическом привычном невынашивании и патогенетических основ высокой эффективности метода иммуноцитотерапии.

Соискатель имеет 183 печатные работы, в том числе по теме диссертации 47 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 23 статьи, 22 публикации в материалах отечественных и международных конференций и конгрессов, 2 патента. Сведения об опубликованных соискателем работах достоверны. Авторский вклад – 80%. Объем научных изданий по теме диссертации, посвященных оценке диагностической значимости различных иммунологических маркеров при привычном невынашивании беременности, составляет 22 печ. л.

Наиболее значимые работы: 1. Кречетова, Л.В. Оптимизация выявления антиотцовских антилейкоцитарных антител в сыворотке крови женщин с привычным невынашиванием после введения аллогенных лимфоцитов /Л.В. Кречетова, М.А. Николаева, Л.В. Ванько, М.М. Зиганшина, Е.Л. Голубева, Е.О. Степанова, Г.Т. Сухих //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. –Т.153, №5. – С.684-688. 2. Кречетова, Л.В. Блокирующий эффект аутологичной сыворотки женщин с привычным невынашиванием беременности /Л.В. Кречетова, М.А. Николаева, Л.В. Ванько, Е.Л. Голубева, М.М. Зиганшина, Н.К. Тетруашвили, В.В. Вторушина, Г.Т. Сухих //Акушерство и гинекология. – 2013. – №3. – С.38-42. 3. Кречетова, Л.В. Продукция цитокинов *in vitro* мононуклеарными клетками периферической крови при проведении аллоиммунизации у пациенток с привычным выкидышем /Л.В. Кречетова, М.А. Николаева, Л.В. Ванько, М.М. Зиганшина, В.В. Вторушина, Н.А. Хачатрян, Н.К. Тетруашвили, Г.Т. Сухих //Акушерство и гинекология. – 2014. – №5. – С.51-56. 4. Кречетова, Л.В. Особенности фенотипа лимфоцитов периферической крови женщин с привычным выкидышем /Л.В. Кречетова, Н.А. Хачатрян, Н.К. Тетруашвили, В.В. Вторушина, Е.О. Степанова, М.А. Николаева, Г.Т. Сухих //Акушерство и гинекология. – 2014. – №10. – С.27-33. 5. Кречетова, Л.В. Динамика выработки антилейкоцитарных антител к отцовским антигенам при иммунизации аллогенными клетками женщин с привычным выкидышем /Л.В. Кречетова, Н.А. Хачатрян, Н.К. Тетруашвили, В.В. Вторушина, Е.О. Степанова, Е.Л. Голубева, М.А. Николаева, Г.Т. Сухих //Акушерство и гинекология. – 2015. – №3. – С.16-20. 6. Кречетова, Л.В. Динамика субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови в первом триместре беременности у женщин с привычным выкидышем на фоне проведения иммуноцитотерапии /Л.В. Кречетова, Н.К. Тетруашвили, В.В. Вторушина, Е.О. Степанова, М.А. Николаева, Е.Л. Голубева, Н.А. Хачатрян //Акушерство и гинекология. – 2015. – № 6. – С.59-66. 7. Кречетова, Л.В. Особенности фенотипа лимфоцитов периферической крови женщин с идиопатическим привычным выкидышем в зависимости от исхода беременности на фоне иммуноцитотерапии /Л.В. Кречетова, Н.К. Тетруашвили, В.В. Вторушина, М.А. Николаева, Н.А. Хачатрян, А.А. Агаджанова, Л.В. Ванько, Т.Ю. Иванец, Г.Т. Сухих //Акушерство и гинекология. – 2017. – №7. – С.52-60.

На диссертацию и автореферат поступили 4 положительных отзыва без замечаний от: 1) д.м.н., профессора Волковой Ларисы Владимировны, заведующей лабораторией иммуногистохимической и патологоанатомической диагностики КДЦ, профессора кафедры фундаментальной медицины Медицинского института ФГАУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства науки и высшего образования РФ (г. Калининград); 2) д.м.н., профессора Николаевой Елены Николаевны, профессора кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России (г. Москва); 3) д.м.н., профессора Макаровой Ольги Васильевны, заведующей лабораторией иммуноморфологии воспаления ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» Министерства науки и высшего образования РФ (г. Москва); 4) д.м.н., профессора Синчихина С.П., заведующего кафедрой акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Астрахань).

В отзывах отмечено, что работа имеет несомненное практическое значение, заключающееся в обосновании необходимости расширенного иммунологического обследования пациенток с привычным невынашиванием неясного генеза, в выявлении показателей для персонализированного назначения иммуноцитотерапии в лечении идиопатического привычного выкидыша, как в прегравидарной подготовке, так и в I триместре гестации, что важно для повышения эффективности данного вида терапии, которая способствует формированию толерантности к аллоантигенам отца и пролонгированию беременности.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, и большим опытом работы в области иммунологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: разработаны критерии признаков аллоиммунного генеза привычного выкидыша, позволяющие включать иммуноцитотерапию (аллоиммунизацию лимфоцитами супруга) в лечение женщин с идиопатическим привычным невынашиванием беременности, и критерии эффективности иммуноцитотерапии в сроке 12 недель гестации. Предложен метод определения антиотцовских антилейкоцитарных антител как показателей эффективности аллоиммунизации и обоснована достаточность 2-х процедур аллоиммунизации в прегестационной подготовке женщин с идиопатическим привычным выкидышем в анамнезе. Доказана высокая диагностическая ценность определения содержания NK- и NKT-лимфоцитов в периферической крови женщин с идиопатическим привычным выкидышем вне беременности, а также высокая эффективность аллоиммунизации в лечении идиопатического привычного выкидыша. Введена в практику оценка содержания NK-, NKT- и CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> лимфоцитов у женщин в 5-6 недель гестации как показателей для персонализированного назначения иммуноцитотерапии в I триместре беременности.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: впервые доказано отсутствие нарушений в распознавании антигенов партнера иммунной системой пациенток с идиопатическим привычным выкидышем, основанное на данных о сходном уровне специфического ответа на HLA-антигены отца (антиотцовских антилейкоцитарных антител) у пациенток с пролонгированной на фоне аллоиммунизации беременностью и у пациенток, потерявших беременность на фоне аллоиммунизации, а также на данных о преимущественной активации *in vitro* T-лимфоцитов, но не NK-клеток, у пациенток, потерявших беременность. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс иммунологических методов. Изложены доказательства формирования провоспалительного Th1-типа иммунных реакций у женщин с идиопатическим привычным выкидышем в ранние сроки беременности, пролонгированной на фоне аллоиммунизации до доношенного срока и завершившейся рождением жизнеспособного ребенка, и Th17-типа – у женщин, потерявших беременность на фоне аллоиммунизации. Раскрыта нормализация иммунного статуса у женщин с идиопатическим привычным выкидышем в 12 недель беременности, пролонгированной на фоне аллоиммунизации до доношенного срока и завершившейся рождением

жизнеспособного ребенка, на фоне двойной стимуляции иммунной системы беременной женщины: факторами, продуцируемыми развивающимся плодом и антигенной стимуляцией лимфоцитами партнера в I триместре гестации. Изучены особенности состояния иммунной системы в течение пролонгированной на фоне аллоиммунизации беременности у женщин с идиопатическим привычным выкидышем, связанные с гестационным сроком и заключающиеся в провоспалительном характере ее функционирования в первом и третьем триместре гестации и противовоспалительном – во втором триместре гестации. Проведена модернизация протоколов подготовки к беременности и ведения беременности у женщин с идиопатическим привычным выкидышем с учетом выявленных клинически значимых показателей состояния иммунной системы пациенток для персонализированного назначения иммуноцитотерапии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: для персонализированного назначения аллоиммунизации показана целесообразность определения содержания в периферической крови пациенток с идиопатическим привычным выкидышем вне беременности субпопуляций с киллерной активностью  $CD56^+$ ,  $CD3^-CD56^+CD16^+$  и  $CD3^+CD56^+CD16^+$ , а в 5-6 недель гестации – субпопуляций  $CD56^+$ ,  $CD3^-CD56^+CD16^+$ ,  $CD3^-CD16^+$ ,  $CD200^+$ ,  $CD3^-CD8^+$ . Разработан и внедрен в практику оптимальный способ определения антиотцовских антилейкоцитарных антител в сыворотке крови после аллоиммунизации. Обоснована достаточность двух процедур иммунизации в предгестационной подготовке. Определены возможные области внедрения: клиническая иммунология, клиническая лабораторная диагностика, акушерство. Экономический эффект от внедрения будет определяться улучшением акушерских и перинатальных исходов и оптимизацией использования ресурсов перинатальных центров, центров планирования семьи и репродукции и других профильных учреждений здравоохранения. Полученные результаты внедрены в практическую деятельность 2-го отделения патологии беременности (отделения терапии и профилактики невынашивания беременности) ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Создана система оценки эффективности иммуноцитотерапии в лечении идиопатического привычного выкидыша. Представлены данные, способствующие оптимизации протоколов обследования пациенток с привычным выкидышем неясного генеза вне беременности, протоколов прегравидарной подготовки и протоколов ведения I триместра гестации у пациенток с таким акушерским осложнением.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: результаты получены с использованием современных иммунологических методов диагностики, с использованием сертифицированного оборудования. Теория построена на известных, проверяемых данных и фактах, согласуется с опубликованными данными по проблеме формирования толерантности к аллоантигенам плода у женщин с привычным выкидышем неясного генеза, по спектру иммунологических показателей, динамика которых значима при проведении иммуномодулирующей терапии в период подготовки к беременности и в

ранний гестационный период у женщин с таким акушерским осложнением. Идея базируется на анализе и обобщении передового опыта по выявлению иммунных причин невынашивания беременности, тактике ведения женщин с идиопатическим привычным выкидышем при подготовке к беременности и в I триместре гестации, а также по поиску маркеров успешной коррекции привычного невынашивания беременности и маркеров, прогнозирующих раннюю потерю беременности при использовании иммуноцитотерапии в прегравидарной подготовке. Используются сравнения авторских данных и данных, полученных ранее относительно изменений иммунологических показателей при проведении иммуномодулирующей терапии в лечении женщин с идиопатическим привычным невынашиванием беременности, включая период подготовки к беременности и течение I триместра беременности. Установлено обоснованное совпадение авторских результатов с данными отечественных и зарубежных исследователей по перспективам рассматриваемой проблемы использования иммуномодулирующей терапии в лечении пациенток с привычным невынашиванием беременности неясного генеза. Используются современные методики сбора и обработки первичной информации, хранения, анализа, статистической обработки данных с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и пакета статистических программ MedCalc12 для Windows 7.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационного исследования: выбор направления исследования, разработка дизайна, определение цели и задач, сбор и анализ литературы по теме исследования, подбор и подготовка образцов биоматериала, проведение основного объема лабораторных исследований, включающих фенотипирование лимфоцитов по поверхностным CD-маркерам, культивирование лимфоцитов с митогенами для последующего фенотипирования и получения супернатантов, пробоподготовка для выявления лимфоцитов с внутриклеточной экспрессией транскрипционных факторов, выполнение тестов по мультиплексному анализу, а также ведение базы данных по пациентам, обработка и оценка результатов исследования, подготовка материалов для публикации и оформление работы. Автор лично готовил доклады-презентации по выполненной работе на научно-практических мероприятиях.

На заседании 13.12.2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Кречетовой Любови Валентиновне ученую степень доктора медицинских наук по специальности «14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология».

При проведении тайного голосования, диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 15 докторов наук по специальности 14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология», участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 16, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,  
доктор биологических наук, профессор



Тихонова Нина Тимофеевна

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук  
13.12.2018 г.

Новикова Лидия Ивановна