

ОТЗЫВ

Официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заместителя генерального директора по научной работе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России

Дегтярева Дмитрия Николаевича

на диссертационную работу Поповой Ирины Геннадьевны на тему «**ФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ, РОДИВШИХСЯ У МАТЕРЕЙ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ: МЕХАНИЗМЫ ЕЕ НАРУШЕНИЙ В ПРОЦЕССЕ РАННЕЙ ПОСТНАТАЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ**», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

Диссертационное исследование И.Г. Поповой относится к работам, которые затрагивают фундаментальную медико-биологическую проблему оценки функции эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией, а также изучение механизмов ее влияния на процессы ранней постнатальной адаптации.

Актуальность исследования обусловлена тем, что преэклампсия представляет собой фактор риска по развитию тяжелой перинатальной патологии у новорожденных детей. Частота респираторных расстройств у новорожденных, родившихся от матерей с преэклампсией, существенно выше, чем у детей аналогичного гестационного возраста от матерей без преэклампсии, и составляет 40,6% при умеренной преэклампсии и 71,1% - при тяжелой. Клинико-инструментальные признаки церебральной ишемии наблюдается у 84,4% новорожденных, рожденных от матерей с преэклампсией, из которых 9,8% имеют церебральную ишемию I степени, 82,6% – II степени и 7,6% – III степени. Частота возникновения внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) у новорожденных от матерей с умеренной преэклампсией составляет 19,1%, а у матерей с тяжелой преэклампсией – 45,3%, что существенно выше, чем у детей, родившихся у матерей без преэклампсии. Эндотелиальная дисфункция является одним из патогенетических механизмов преэклампсии, которая приводит к формированию патологического процесса в системе мать–плацента–плод. Нарушение функции эндотелия у является одним из ключевых факторов в патогенезе многих заболеваний, а успех лечения этих нарушений зависит от своевременной оценки эндотелиальной дисфункции. У новорожденных наблюдаются особенности формирования функциональной активности эндотелия в период ранней постнатальной адаптации, особенно на фоне недоношенности и сопутствующей перинатальной патологии, что усложняет процесс диагностики. Преэклампсия в настоящее время считается осложнением беременности, которое оказывает влияние как на

состояние здоровья матери, так и ребенка: она является одним из ключевых факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, которые могут проявиться у женщин даже через 10-15 лет после беременности. У детей, рожденных от матерей с преэклампсией, наблюдается повышенный риск развития раннего атеросклероза, инсульта, ишемической болезни сердца и метаболического синдрома в зрелом возрасте.

Автор в своей работе приводит результаты комплексной оценки функции эндотелия у новорожденных от матерей с преэклампсией, выполненной на основании определения биохимических иммунологических маркеров пуповинной крови и венозной крови новорожденных на 1-е сутки жизни, а также - морфофункциональной оценки эндотелиоцитов сосудов пуповины. Автором проведена оценка оксидантного стресса и у плода и у новорожденного. Выявлены изменения полиморфизма генов, характеризующих сосудистую стенку, у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией. При этом исследования по изучению патофизиологических механизмов развития эндотелиальной дисфункции у новорожденных при ПЭ матери немногочисленны. В настоящее время актуальным является поиск новых маркеров для возможности оценки выраженности эндотелиальной дисфункции и методов ее прогнозирования.

Новизна исследования и полученных результатов

Новизна проведенного Поповой И.Г. исследования состоит в том, что впервые у новорожденных от матерей с преэклампсией на основании современных методов исследований проведена комплексная оценка функции эндотелия. Впервые путем определения эндотелиальных клеток-предшественников в пуповинной крови проведена оценка регенераторной функции эндотелия у новорожденных. Обнаружены специфические изменения в количестве зрелых эндотелиоцитов и клеток-предшественников у новорожденных при умеренной и тяжелой преэклампсии матери. Также впервые проведена комплексная оценка биохимических характеристик функции сосудистого эндотелия у новорожденных от матерей с преэклампсией, с отслеживанием динамики изменений этих маркеров в процессе ранней постнатальной адаптации. Проведенное исследование расширило знания об особенностях содержания маркеров вазомоторной, ангиогенной и гемостатической функций эндотелия, а также показателей свободнорадикального окисления и антиоксидантной активности крови.

В диссертации Поповой И.Г. впервые показано, что эндотелиальная дисфункция у новорожденных, родившихся от матерей с преэклампсией, сопровождается выраженными структурными изменениями венозных эндотелиоцитов пуповины на клеточном и

ультраструктурном уровнях. Впервые было установлено, что одним из механизмов, способствующих эндотелиальной дисфункции на уровне пупочного канатика при беременности с преэклампсией, является дисбаланс в экспрессии аннексина-5 и VEGF на фоне застойного полнокровия и деструктивных изменений эндотелиоцитов, что может служить маркером формирования эндотелиальной дисфункции у плода.

Впервые исследован клеточный лизат, полученный из эндотелиальных клеток, выделенных из вены пуповины. При оценке лизата клеток, выделенных из вены пуповины, выявлено, что у новорожденных от матерей с преэклампсией отмечено большее количество десквамированных эндотелиоцитов, что указывает на повреждение эндотелия пуповины. Оценка функциональной активности эндотелиоцитов проводилась на основе определения концентрации регуляторов вазомоторной функции (эндотелиальной NO-синтазы, цГМФ), ангиогенина и показателей свободнорадикального окисления и антиоксидантной активности. Было отмечено изменение функциональной активности эндотелиальных клеток и усиление свободнорадикального окисления и антиоксидантной активности у данных новорожденных. Обнаруженные изменения в полиморфизме генов, ответственных за состояние сосудистой стенки у новорожденных от матерей с преэклампсией, могут свидетельствовать о повышенном риске сердечно-сосудистых нарушений в более старшем возрасте.

На основе проведенного исследования определены критерии для прогнозирования перинатальной патологии, возникшей у новорожденных из-за эндотелиальных нарушений, учитывающие патогенетическую значимость и информативность отдельных функций эндотелия. Выявлена взаимосвязь между маркерами функции эндотелия и развитием перинатальной патологии у новорожденных от матерей с преэклампсией.

Впервые определено, что повышение уровней ангиопоэтина 1 в пуповинной крови позволяет прогнозировать развитие церебральной ишемии у новорожденных от матерей с ПЭ в периоде ранней постнатальной адаптации. Определены прогностические параметры развития легкой, средней и тяжелой степеней тяжести церебральной ишемии у новорожденных от матерей с преэклампсией в периоде ранней постнатальной адаптации.

Впервые выявлено, что повышение концентрации тромбомодулина в пуповинной крови позволяет прогнозировать развитие тяжелой дыхательной недостаточности в раннем неонатальном периоде у детей от матерей с преэклампсией.

Впервые выявлено, что повышение концентрации эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и ангиогенина (ANG) в лизате эндотелиальных клеток, выделенных из вены пуповины, позволяет прогнозировать развитие в раннем неонатальном периоде

внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) у недоношенных детей, родившихся у матерей с преэклампсией.

Выявлено, что у новорожденных, родившихся от матерей с умеренной преэклампсией, в раннем неонатальном периоде отмечались признаки умеренной асфиксии, дыхательные нарушения, перинатальные поражения центральной нервной системы (церебральная ишемия II степени, внутричерепные кровоизлияния). У новорожденных от матерей с тяжелой преэклампсией чаще диагностировались тяжелая асфиксия, дыхательные нарушения, требующие продолжительной респираторной поддержки, перинатальное поражение центральной нервной системы (церебральная ишемия II и III степени и внутричерепные кровоизлияния).

Оценка содержания диссертации, ее завершенности, замечания по оформлению.

Диссертация построена по традиционному плану и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов», «Заключение», «Выводы» и список использованной литературы. Работа изложена на 245 страницах, включает 15 рисунков и 33 информативных таблиц, представляющих полученные результаты. Список литературы содержит 465 литературных источника, в него входит 160 отечественных источника и 305 зарубежных. Обзор литературы занимает по объему 27 страниц. Он включает современные данные о роли эндотелиальной дисфункции в развитии перинатальной патологии у новорожденных, характеристику наиболее изученных маркеров, характеризующих функции эндотелия в организме, рассмотрены данные о роли и значении содержания эндотелиальных клеток-предшественников в крови беременных и новорожденных детей. Обзор охватывает проблемы, имеющие прямое отношение к теме диссертационного исследования.

Для реализации поставленных задач диссертант применил современные методы исследований. В главе «**Материалы и методы исследования**» приведено подробное описание дизайна работы и критериев отбора пациентов в исследование, используемые методы и методики подробно описаны. Автором были использованы современные биохимические, иммунологические, молекулярно-генетические, морфологические и иммуногистохимические методы. Биохимические методы автором использовались для оценки газотрансмиттеров крови, характеризующих вазомоторную функцию эндотелия, исследования маркеров пуповинной и венозной крови новорожденного, характеризующих ангиогенную и гемостатическую функцию эндотелия. Экспрессию молекул CD34, CD133,

CD45, VEGFR-2 в пуповинной крови проводилось методом многоцветной проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител с целью оценки регенераторной функции эндотелия. Иммуногистохимически определяли экспрессию в венозном эндотелии сосудистых факторов VEGF, аннексина-5, AGTR1. Экспериментальное исследование включало выделение эндотелиальных клеток из вены пупочного канатика, получение лизата клеток и определение показателей окислительного стресса методом хемилюминесценции и регуляторов ангиогенеза eNOS, цГМФ и ангиогенина иммуноферментным анализом. В конце главы описаны применяемые в работе статистические методы.

Раздел «Результаты собственных исследований» включает 4 главы и 10 подразделов, где автором последовательно описаны все выполняемые исследования. Описание результатов четко структурировано и соответствует задачам исследования, полученные данные представлены ясно, подробно проиллюстрированы, логично изложены.

Обсуждение полученных результатов приведено подробно, занимает значительную часть диссертационной работы, содержит анализ и обобщение собственных данных, их сопоставление с данными научных групп и исследователей в соответствующей области патофизиологии.

Завершается диссертационная работа кратким заключением и обоснованными выводами, отражающими основное содержание работы в полном соответствии поставленным задачам, что свидетельствует о завершенности диссертационного исследования.

Принципиальных замечаний по диссертационному исследованию нет. В тексте встречаются отдельные опечатки и стилистические неточности, не снижающие ценность проведенного исследования, и не влияют на общую положительную оценку диссертационного исследования.

Достоверность и обоснованность результатов исследований

Полученные в работе Поповой И.Г. данные не вызывают сомнения с точки зрения их фундаментальной науки и практической значимости. Научные положения и выводы полностью обоснованы данными, полученными с использованием современных методик, включающих в себя комплекс иммунологических, биохимических, молекулярно-биологических и иммуногистохимических подходов. Использование таких лабораторных методов, как многоцветная проточная цитофлуориметрия для фенотипирования

эндотелиальных клеток-предшественников, индуцированная хемилюминесценция для оценки оксидантного стресса, метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для проведения генетического исследования обоснованно поставленными в диссертации задачами. Достоверность результатов обеспечивается адекватной статистической обработкой, выполненной в соответствии с современными требованиями к анализу биомедицинских данных. Надлежащий уровень полученных данных подтверждается 61 публикацией статей, 13 из которых размещено в журналах, рекомендованных ВАК, 5 патентами на изобретение и научными докладами на российских и международных конгрессах и конференциях. Автореферат полно отражает содержание диссертационной работы, положения, выносимые на защиту, и выводы оформлены в соответствии с существующими требованиями.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Теоретическое значение диссертационной работы Поповой И. Г. определяется расширением знаний о механизмах нарушения функции эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией. На основании полученных данных выявлены ассоциации изменения регенераторного потенциала эндотелия и повышением содержания зрелых эндотелиальных клеток и эндотелиальных клеток-предшественников в пуповинной крови новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией. Выявлены особенности изменения вазомоторной, ангиогенной и гемостатической функции эндотелия сосудов пуповины и сосудов у новорожденных в периоде ранней постнатальной адаптации в зависимости от степени тяжести преэклампсии и срока гестации. Установлена роль изменения экспрессии в венозном эндотелии сосудистых факторов (VEGF, аннексина-5, AGTR1) и повышения в лизате эндотелиальных клеток, выделенных из вены пуповины, маркера окислительного стресса (tga) и уровней регуляторов ангиогенеза (цГМФ и ангиогенина) в формировании эндотелиальной дисфункции у плода при преэклампсии матери. Определен полиморфизм генов, влияющих на морфофункциональное состояние сосудистой стенки у новорожденных детей, родившихся от матерей с преэклампсией.

Практическая значимость исследования обусловлена тем, что разработаны и рекомендованы для использования в работе врачей-неонатологов и детских анестезиологов-реаниматологов новые способы прогнозирования перинатальной патологии у новорожденных детей:

- для прогнозирования тяжелой дыхательной недостаточности у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией;
- для прогнозирования внутрижелудочковых кровоизлияний у недоношенных новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией;
- для прогнозирования церебральной ишемии у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией;
- для прогнозирования степени тяжести церебральной ишемии у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией.

Личный вклад диссертанта

Личный вклад автора прослеживается по всей работе и состоит в планировании и участии во всех этапах диссертационного исследования, - от проработки дизайна исследования и проработки методологии решения научных задач, до глубокого анализа патофизиологических механизмов эндотелиальной дисфункции на основании полученных в работе результатов. Основные результаты диссертационной работы были получены в ходе выполнения гранта РФФИ № 18-415-370002 на тему «Особенности эндотелиальных клеток – предшественников и молекулярных маркеров функции эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией», в котором автор был основным исполнителем, определял и планировал исследования, проводил обобщение материала и выполнял написание и оформлением отчетов по гранту. В подавляющем большинстве публикаций по теме диссертации фамилия автора стоит на первом месте. Вклад ученых, оказавших содействие выполнению работы, отражен в публикациях по теме диссертации.

Заключение

Диссертация Поповой Ирины Геннадьевны «Функция эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией: механизмы ее нарушений в процессе ранней постнатальной адаптации» является самостоятельной завершенной научно – квалифицированной работой, содержащей решение актуальной научной проблемы - выявление у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией, особенностей функции эндотелия, обоснование механизмов развития нарушений в процессе ранней постнатальной адаптации детей и разработка способов прогнозирования перинатальной патологии, что имеет важное научно – практическое значение для патологической физиологии.

По актуальности темы, объему выполненных автором исследований, научной новизне полученных данных и их научно-практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованность сделанных выводов диссертационная работа Поповой Ирины Геннадьевны «Функция эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией: механизмы ее нарушений в процессе ранней постнатальной адаптации», соответствуют требованиям п.9-14 «Положениям о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), а сама диссертант заслуживает присвоения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Официальный оппонент:

заместитель генерального директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

д.м.н., профессор

Д.Н. Дегтярев

подпись д.м.н., профессора Д.Н. Дегтярева «ЗАВЕРЯЮ»

дата

17.04.2025

*Учредитель секретарь
к. м. н. Бец*



В.В. Рогов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ "НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова" Минздрава России)
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
Телефон: 8(495) 531 44 44;
E-mail: info@oparina4.ru
Официальный сайт: <https://ncagp.ru/>