

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, профессора кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии Института материнства и детства ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

Ройтмана Евгения Витальевича

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

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Преэклампсия (ПЭ) является одной из актуальных проблем современного акушерства ввиду высокой частоты материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, причиной тяжелой заболеваемости, инвалидизации матерей и их детей. Частота преэклампсии составляет 2–8%. При этом у новорожденных от матерей с преэклампсией частота перинатальной патологии, нарушений физического, психосоматического развития, особенно у преждевременно рожденных детей достаточно высока, так же как и риск развития у них в будущем соматических заболеваний. Эта проблема является значимой не только в медицинском, но и в социальном плане.

Изучение маркеров, характеризующих функцию эндотелия, представляет большой научный интерес, поскольку эти исследования дают важную информацию относительно механизмов и тяжести эндотелиальной дисфункции (ЭД), а также для прогнозирования рисков развития патологии. Трудности диагностики ЭД у новорожденных связаны с особенностями становления функциональной активности эндотелия в периоде ранней постнатальной адаптации, особенно, на фоне недоношенности и сопутствующей неонатальной патологии. ЭД предшествует появлению

клинических симптомов заболеваний, поэтому оценка функции эндотелия имеет значительное диагностическое и прогностическое значение.

Согласно наиболее признанной гипотезе, причиной ПЭ является нарушение процессов формирования плаценты в самые ранние сроки гестации. Снижение функциональных возможностей эндотелиальных клеток плода при ПЭ, происходящих вследствие дисфункциональных нарушений в плаценте, негативно влияют на эндотелий плода и впоследствии у новорожденных. Поскольку эндотелий это активный эндокринный орган, при этом происходит нарушения микроструктуры и секреторной активности эндотелиоцитов, что сопровождается дисбалансом между продукцией синтезируемых эндотелием факторов. Поэтому актуальным является проведение комплексной оценки функции эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией, в процессе их ранней постнатальной адаптации, для выявления эндотелиальных нарушений, уточнения механизмов развития перинатальной патологии у детей и разработки способов прогнозирования выявленных изменений.

Достоверность и обоснованность полученных в диссертационном исследовании результатов определяется высоким методическим уровнем работы, что включает использование обоснованных методов исследования. Дизайн клинических, лабораторных и экспериментальных исследований продуман и обоснован, соблюдалась этапность и логика выполнения исследований. Первый этап исследований включал в себя исследование плаценты и пупочного канатика в норме и при преэклампсии на структурном и ультраструктурном уровне, затем проводилась оценка функциональной активности эндотелиоцитов путем иммуногистохимического исследования. Экспериментальная часть исследований включала выделение клеток эндотелия пупочного канатика, получение лизата клеток и исследование функциональной активности клеток иммуноферментным методом. Вторым этапом исследования проводилась определение молекулярных маркеров

пуповинной крови при рождении ребенка и крови новорожденного на 1-е сутки жизни, характеризующие функции эндотелия (вазомоторную, ангиогенную, гемостатическую) и проявления оксидантного стресса в организме плода и новорожденного, а также выявлены полиморфизмы генов, ассоциированные с развитием дисфункции сосудистой стенки. На третьем этапе работы была проведена клиническая характеристика состояния здоровья детей от матерей с преэклампсией, выявлена взаимосвязь между отдельными показателями функции эндотелия и развитием перинатальной патологии у детей и разработаны критерии прогнозирования перинатальной патологии у новорожденных на основании выявленных эндотелиальных нарушений.

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные автором в диссертации, основаны на изучении большого объема результатов экспериментальных, клинических и лабораторных исследований. В работе были использованы современные методы исследований, адекватные поставленным задачам. Выводы и положения диссертационной работы сформулированы на основании полученных результатов и соответствуют цели и задачам диссертации. Статистический анализ данных сделан на высоком уровне. Использовали критерии Манна-Уитни и Колмогорова-Смирнова для определения статистической значимости в случае независимых выборок и критерий Вилкоксона при парных сравнениях. Взаимосвязь между показателями оценивали при помощи коэффициента корреляции Спирмена. Различия относительных показателей определяли с использованием критерия хи-квадрат. Для количественной оценки различных факторов риска использовали расчет отношения шансов (ОШ) с использованием онлайн калькулятора OpenEpi. В ряде случаев проводился корреляционный анализ и ROC-анализ. В целом статистические методы подобраны адекватно.

Материалы исследований опубликованы в 61 печатной работе, в том числе 13 статей в журналах перечня ВАК по специальности 3.3.3. Патологическая физиология, получено 5 патентов на изобретения. В

большинстве публикации Ирина Геннадьевна является первым автором. Помимо этого, данные многократно были представлены на конференциях разного уровня, от Всероссийских до международных.

Характеристика содержания диссертационной работы.

Диссертация написана в классическом стиле и состоит из введения, четырех глав: «обзор литературы», «материалы и методы», «результаты собственных исследований», «обсуждения», заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 465 источников. Диссертация иллюстрирована 15 рисунками, представлено 33 таблицы.

Для реализации исследования было поставлено семь задач, которые направлены на достижение поставленной в диссертации цели.

Во введении диссертации автором сформулирована актуальность исследования, цель и задачи исследования, сформулирована научная новизна и теоретическая и практическая значимость, степень достоверности и апробация результатов диссертационного исследования, представлены основные положения, выносимые на защиту, а также внедрение результатов исследования в практику и соответствие диссертации паспорту научной специальности, а также личный вклад автора в получение результатов.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором приведены современные данные о роли эндотелиальной дисфункции в развитии перинатальной патологии у новорожденных, приведена характеристика наиболее изученных маркеров, характеризующих функции эндотелия в организме. Рассмотрены данные о значении определения эндотелиальных клеток-предшественников в крови беременных и новорожденных детей. Обзор содержит и обобщает много новых данных, значимых для патологической физиологии.

Глава 2 содержит описание материалов и методов, используемых в работе. Подробно описана организация работы, объем и дизайн исследований и критерии отбора пациентов в исследование, исчерпывающее подробно описаны используемые методы и методики. В главе описаны биохимические, иммунологические, молекулярно-генетические и морфо-гистохимические методы. Подробно описано экспериментальное исследование, включающее выделение эндотелиальных клеток из вены пупочного канатика. В конце главы описаны применяемые в работе статистические методы.

Глава 3 содержит результаты собственных исследований. Глава четко структурирована и соответствует задачам исследования. Результаты представлены ясно, подробно проиллюстрированы, логично изложены. Полученные данные представлены как в рисунках, так и в таблицах.

Глава 4 «Обсуждение полученных результатов занимает значительную часть диссертационной работы, содержит анализ и обобщение собственных данных, их сопоставление с данными научных групп и исследователей в соответствующей области патофизиологии. В частности, проанализированы особенности изменения функций эндотелия у новорожденных от матерей с преэклампсией в зависимости от тяжести преэклампсии и срока гестации. В завершении дан анализ возможного применения полученных данных при прогнозировании перинатальной патологии.

По результатам выполненной работы сформулировано 9 выводов. Выводы и положения, выносимые на защиту, соответствуют поставленным задачам. Задачи исследования выполнены полностью.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов, сформулированных в диссертации. Впервые дана оценка регенераторной функции эндотелия на основании определения экспрессии молекул CD34, CD133, CD45, VEGFR-2 в пуповинной крови новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией. Выявлены особенности изменения количества

зрелых эндотелиоцитов и эндотелиальных клеток – предшественников у новорожденных и при умеренной, и при тяжелой преэклампсии матери.

Впервые у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией проведена комплексная оценка биохимических особенностей функции сосудистого эндотелия и прослежена динамика изменений вазомоторной, ангиогенной, гемостатической функций эндотелия, а также показателей свободнорадикального окисления и антиоксидантной активности в процессе ранней постнатальной адаптации новорожденных на основании определения этих маркеров в пуповинной крови и крови новорожденных в 1-е сутки жизни.

Эндотелиальная дисфункция у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией, сопровождается патоморфологическими изменениями венозного эндотелия пупочного канатика и изменением функциональной активности эндотелиальных клеток сосудов пуповины. Выявлены особенности экспрессии сосудистого фактора роста, аннексина-V, рецептора ангиотензиногена 1в венозном эндотелии сосудов пупочного канатика новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией.

Впервые проведено исследование клеточного лизата, полученного экспериментальным путем из эндотелиальных клеток, выделенных из вены пуповины. На основании определения в клеточных лизатах концентрации регуляторов эндотелиальной синтазы оксида азота, циклической ГМФ, ангиогенина и показателей свободнорадикального окисления и антиоксидантной активности проведена оценка функциональной активности эндотелиоцитов сосудов пуповины новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией.

Помимо этого, впервые выявлены изменения полиморфизма генов, характеризующих сосудистую стенку, у новорожденных, родившихся у матерей с ПЭ, которые свидетельствуют о повышенном риске развития нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы у этих детей в периоде ранней постнатальной адаптации и последующей жизни.

На основании полученных данных разработаны способы прогнозирования перинатальной патологии с учетом патогенетической значимости и информативности отдельных показателей функции эндотелия. Получены 5 патентов на изобретение.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

Полученные результаты диссертационного исследования Поповой Ирины Геннадьевны вносят вклад в развитие представлений о механизмах нарушения функции эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией. Проведена огромная работа по оценке регенераторного потенциала эндотелия на основании определения эндотелиальных клеток-предшественников в пуповинной крови новорожденных. Очевидно, что данное исследование имеет большое теоретическое значение, так как 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. Помимо этого, автор установил роль изменения экспрессии в венозном эндотелии сосудистых факторов (VEGF, аннексина-5, AGTR1) и лизате эндотелиальных клеток, выделенных из вены пуповины, маркера окислительного стресса (tgα) и уровней регуляторов ангиогенеза (цГМФ и ангиогенина) в формировании эндотелиальной дисфункции у плода при преэклампсии матери. Важное значение имеет выявление особенностей полиморфизма генов, характеризующих сосудистую стенку у новорожденных, родившихся от матерей с преэклампсией.

Практическая значимость работы заключается в прогностическом значении полученных результатов. Для неонатологов и детских реаниматологов предложены:

- новые способы прогнозирования перинатальной патологии у новорожденных: для прогнозирования тяжелой дыхательной недостаточности у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией (патент № 2751287 от 12.07.2021); для прогнозирования внутрижелудочковых кровоизлияний у недоношенных новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией (патент № 2792565 от 22.03.2023); для прогнозирования церебральной ишемии у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией (патент № 2770561 от 18.04.2022); для прогнозирования степени тяжести церебральной ишемии у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией (патент № 2775706 от 06.07.2022).

Автореферат в полном объеме отражает результаты диссертационной работы.

Принципиальных замечаний и вопросов не имею.

Соответствие диссертации критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней.

Диссертация Поповой Ирины Геннадьевны на тему «Функция эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией: механизмы ее нарушений в процессе ранней постнатальной адаптации», является законченной квалификационной работой, в которой решена проблема, имеющая значение для патологической физиологии в целом, выявлены и обоснованы механизмы развития нарушений функции эндотелия у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией и идентифицированы прогностические критерии развития перинатальной патологии у новорожденных для улучшения перинатальных и неонатальных исходов.

Представленное к оппонированию диссертационное исследование соответствует требованиям п.9-14 «Положениям о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013

