

ОТЗЫВ

Официального оппонента, доктора медицинских наук профессора,
заместителя директора по научной работе, заведующего лабораторией
клинической биохимии и генетики

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и
детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России

Назарова Сергея Борисовича

на диссертационную работу Зиганшиной Марины Михайловны на тему:
**«ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ РАЗВИТИЯ
ГЛИКОПАТОЛОГИИ В СИСТЕМЕ МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПЛОД»**,
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальностям: «3.3.3. – Патологическая физиология» и «3.2.7. –
Иммунология»

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Преэклампсия (ПЭ) и задержка роста плода (ЗРП) осложняют в совокупности до 10% всех беременностей. Показатели материнской и перинатальной заболеваемости и смертности вследствие их развития остаются стабильно высокими, без тенденции к снижению. Оба синдрома влияют на качество последующей жизни, т.к. связаны с программированием сердечно-сосудистой системы и других систем матери и ребенка. Основным фактором патогенеза обоих синдромов является нарушение функции плаценты, вследствие чего их относят к плацента-ассоциированным заболеваниям. Патофизиологические механизмы развития обоих синдромов многообразны, а ПЭ многие исследователи обозначают как “болезнь теорий”, в связи с чем, исследования, направленные на изучение молекулярных механизмов функционирования плаценты в норме и, особенно, при патологии, чрезвычайно актуальны, поскольку причины нарушений формирования и функционирования фетоплацентарного комплекса нельзя признать окончательно изученными.

Плацента – основной орган, который определяет развитие беременности. Но это также сайт, где происходит непосредственный контакт аллогенных клеток. Вклад иммунной системы в развитие беременности был признан ключевым со времен открытия феномена иммунологической толерантности. Иммунные механизмы, обеспечивающие развитие толерантности к полуаллогенному плоду, подробно исследовались с этого момента. Однако единой теории,

объединяющей патоиммунные механизмы осложненной беременности и интегрально рассматривающей взаимосвязь и взаимовлияние всех звеньев системы мать-плацента-плод как единого целого, с учетом анализа общих закономерностей нарушений функции клеток, органов, систем и организма (при патологической беременности нарушения развиваются и у матери, и у плода), предложено не было. В диссертационном исследовании Зиганшиной М.М. патоиммунные механизмы осложненной беременности рассматриваются с точки зрения особенностей гликозилирования молекул, являющихся составной частью структур плацентарного барьера и их влияния на иммунную систему матери и плода в аспекте анализа антигликановых антител и факторов, регулирующих гликозилирование. Патоиммунные механизмы, связанные с гликозилированием, еще не были изучены при осложненной беременности. Представленная и научно обоснованная концепция развития гликопатологии в системе мать-плацента-плод является не только решением научной проблемы – выявление новых механизмов развития патологии беременности, но и решением практически значимой проблемы - повышение эффективности диагностики ПЭ и прогноза перинатальных исходов и течения раннего неонатального периода у новорожденных от матерей с ПЭ, что является актуальным и будет востребовано не только в научном сообществе, но и в практическом акушерстве.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА, ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

В ходе выполнения диссертационной работы автор получил и научно обосновал данные, которые не имеют аналогов в мировой науке. Патофизиологические механизмы, связанные с нарушениями/изменениями гликозилирования не исследованы в репродуктивной медицине. Существуют отдельные описательные работы по изучению гликанов в ткани плаценты при гипертензивных расстройствах при беременности (ГРБ), задержке роста плода, а также в ткани плаценты беременных с сахарным диабетом, которые констатировали факт изменений экспрессии гликанов плаценты при осложненной беременности. Исследований, которые комплексно изучали гликановый фенотип клеток и структур плаценты, локальный иммунитет плаценты, включающий резидентные

антигликановые антитела и экспрессию иммунных факторов, регулирующих гликозилирование и продукцию антител, в мировой науке не было представлено. Гликом плаценты охарактеризован точно, а понятие о гликопатологии плаценты не было научно обосновано ранее. В диссертационном исследовании Зиганшиной М.М., кроме вышеназванного, впервые идентифицированы и подтверждены иммуногистохимической техникой гликаны – антигены (α Gal-фрагменты гликанов), которые имеют разный состав и строение в нормальной и патологической ткани. Основываясь на сходстве этих гликанов с генетически чужеродными (антиген Галили), они могут быть причиной развития реакций хронического отторжения плода, что служит патоиммунным механизмом развития ПЭ и ЗРП и является одним из важных итогов работы, имеющим научную ценность. Т.о., глобальным достижением данной работы является научно-обоснованное доказательство существования углевод-опосредованных механизмов развития периферической толерантности к плоду и развития гликопатологии плаценты при плацента-ассоциированных осложнениях беременности, что представлено впервые.

В диссертационном исследовании впервые продемонстрировано, что гликопатология плаценты является основополагающим фактором активации клеточного и гуморального звеньев иммунной системы матери и плода. У матерей с ПЭ установлены изменения преимущественно В-клеточного звена иммунной системы, у новорожденных от этих матерей - Т-клеточного звена. У матерей с ПЭ и их новорожденных выявлены изменения иммуно-гормональных гуморальных факторов. Впервые подробно, детально и комплексно рассмотрены антигликановые антитела (АГАТ) периферической и пуповинной крови матери и новорожденного, соответственно. Проведено сопоставление спектров этих АГАТ со спектрами выделенных из плаценты плацента-ассоциированных АГАТ. Идентифицированы общие антигликановые антитела, которые выявляются во всех трех звеньях функциональной системы мать-плацента-плод и установлено их сниженное содержание, как в плаценте, так и в крови матерей и новорожденных от матерей с ПЭ, что имеет патогенетическое значение, т.к. эти антитела направлены против ксеноантигенов углеводной природы. Это, в частности, анти-Галили антитела и антитела к эпитопу,

который носит название антигена Форссмана. Впервые продемонстрировано, что патоиммунные углевод-опосредованные механизмы, выявленные у матери и в плаценте, влияют на развитие иммунной системы младенца. Плоду транспортируются антигликановые иммуноглобулины класса G, однако, у новорожденных с перинатальной патологией выявляется особый паттерн АГАТ. Антитела, составляющие этот паттерн, снижены при патологии и часть из них входит в состав диагностических сигнатур, полученных в данной работе. Функциональное значение этих антител еще предстоит установить, но их присутствие в диагностических сигнатурах указывает на участие в патоиммунных углевод-опосредованных реакциях, значимых не только для периферической, но и центральной толерантности. Т.о., вторым значимым достижением данной диссертационной работы является научно-обоснованное доказательство развития патоиммунных углевод-опосредованных реакций у матери и у новорожденного, что указывает на их участие в механизмах нарушения центральной толерантности при ПЭ. В комплексе с выявленными нарушениями гликан-зависимых иммунных механизмов в плаценте эти данные свидетельствуют о гликопатологии системы-мать-плацента-плод.

Для клинической практики важные данные были получены при анализе спектров АГАТ у беременных с ГРБ, что было выполнено впервые. Выявление особенностей спектров АГАТ у беременных с ПЭ по сравнению с беременными с другими нозологиями, составляющими группу гипертензивных расстройств во время беременности (ГРБ) позволило реализовать сигнатурный подход для диагностики ПЭ и прогноза осложнений. Основными практическими достижениями данной работы можно считать: 1) полученную диагностическую сигнатуру антител, которая позволяет дифференцировать ПЭ от других нозологий группы ГРБ, что способствует выявлению ПЭ на более ранних этапах и оперативному началу ее лечения; 2) полученную сигнатуру АГАТ, прогнозирующую рождение младенца с перинатальной патологией у беременных с ПЭ на поздних сроках беременности; 3) полученную сигнатуру АГАТ, прогнозирующую тяжелое течение раннего неонатального периода у новорожденных от матерей с ПЭ. Использование сигнатур АГАТ будет способствовать снижению материнских и перинатальных осложнений при ПЭ.

Потенциальный практический выход может быть получен в дальнейшей разработке иммуноглобулинового препарата для патогенетической терапии эндотелиальной дисфункции – одного из ключевых звеньев патогенеза ПЭ. Как было впервые установлено в диссертационной работе, анти-Neu5Ac β антитела снижали экспрессию поздних маркеров активации эндотелия, которые опосредуют основные стадии воспалительной реакции - прочной адгезии и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов.

ОБОСНОВАННОСТЬ И ДОСТОВЕРНОСТЬ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ, ВЫВОДОВ И ПРАКТИЧЕСКИХ РЕКОМЕНДАЦИЙ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

Диссертационная работа Зиганшиной М.М. представляет собой комплексное клинико-экспериментальное исследование, выполненное с использованием современных иммунологических, биохимических, молекулярно-биологических и гистохимических методов, привлечение которых обосновано поставленными в диссертации задачами. Высокий методический уровень работы подтверждается использованием 4-х и 5-цветного цитометрического анализа при исследовании субпопуляционного состава клеток периферической и пуповинной крови, применением высокопредставительных гликановых эрреев для получения результатов по АГАТ в периферической, пуповинной крови и в элюатах плаценты, использованием метода тканевых матриц при изучении гликотипа ткани плаценты.

Дизайн клинического исследования соответствует цели и задачам. Число включенных пациенток достаточно для выполнения работы, представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук. Экспериментальные исследования представляют собой многоэтапные процессы *in vitro*, при проведении которых выполнялась как отработка метода (например, метода и условий элюции антител с ткани плаценты), так и подтверждение выявленного изменения или эффекта с помощью нескольких подходов (например, изучение субпопуляций В-клеток памяти с использованием разных классификаций и техник гейтирования, или подтверждение выявленного эффекта анти-Neu5Ac β антител на

экспрессию маркеров активации эндотелия при моделировании разных экспериментальных условий).

Проведенный в работе статистический анализ полученных результатов отвечает современным требованиям, предъявляемым к исследованиям, в которых получены массивные данные. В данной работе при анализе данных гликанового эррея были получены результаты определения 400 антигликановых антител классов М и G, что в совокупности составило 800 антител у каждого пациента. Приведенный в диссертации алгоритм анализа таких данных и примененные статистические методы для поиска диагностических сигнатур АГАТ подтверждают достоверность полученных результатов.

Результаты диссертации опубликованы в высокорейтинговых отечественных и зарубежных рецензируемых журналах и представлены на конференциях, в соответствии со специальностями, по которым представлена работа.

Все вышеописанное свидетельствует о высокой обоснованности и достоверности полученных в диссертационном исследовании результатов и, соответственно, выводов, положений и практических рекомендаций.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ, АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ВАК РФ и содержит все требуемые разделы. Работа изложена научным, грамотным, литературным языком, иллюстрирована наглядным материалом – содержит 83 рисунка и 44 таблицы. Проанализировано 664 литературных источника, привлеченных для написания литературного обзора и обсуждения результатов.

Обзор литературы дает полное представление о рассматриваемой проблеме. Приведены современные данные о механизмах развития центральной и периферической толерантности к плоду при беременности. Описаны клеточные и гуморальные иммунные факторы, участвующие в развитии этого феномена. Значительный интерес представляют приведенные данные об известных углевод-зависимых иммунных механизмах, регулирующих развитие толерантности к плоду. Рассмотрены основные гипотезы, существующие на настоящий момент, в которых

гликаны позиционируются как ключевые факторы, участвующие в межклеточных контактах в репродуктивных и иммунных процессах. Описаны основные виды углеводов-связывающих белков, их функции в иммунной системе. Обзор содержит и обобщает много новых данных, значимых для репродуктивной иммунологии и патологической физиологии.

Глава «Материалы и методы» содержит подробное описание дизайна и критериев отбора в исследование, исчерпывающе подробно описаны используемые методы и методики.

Глава «Результаты» четко структурирована и соответствует задачам исследования. Результаты представлены ясно, подробно проиллюстрированы, логично изложены.

Глава «Обсуждение» занимает значительную часть диссертационной работы, содержит анализ и обобщение собственных данных, их сопоставление с данными научных групп и исследователей в соответствующей области патофизиологии и иммунологии.

Выводы и положения, выносимые на защиту, соответствуют поставленным задачам. Задачи исследования выполнены полностью.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД ДИССЕРТАНТА

Личный вклад автора прослеживается по всей работе и состоит в планировании и участии во всех этапах диссертационного исследования, внимательном отношении к методической части, глубоком анализе иммунологических и патофизиологических механизмов на основании полученных в работе результатов. Основные результаты диссертационной работы были получены в ходе выполнения гранта РФФИ на тему «Изучение фундаментальных механизмов формирования иммунологической толерантности к плоду» (Рег. № НИОКТР АААА-А19-119011090053-2), в котором автор был руководителем научного коллектива, определял и планировал исследования, проводил обобщение материала и выполнял оформление отчетов по гранту. В подавляющем большинстве печатных работ по теме диссертации фамилия автора стоит на первом месте. Вклад ученых, оказавших содействие выполнению работы, отражен в публикациях по теме диссертации.

ДОСТОИНСТВА И НЕДОСТАТКИ, ЗАМЕЧАНИЯ ПО СОДЕРЖАНИЮ И ОФОРМЛЕНИЮ ДИССЕРТАЦИИ

Диссертационная работа выполнена на современном уровне и позволила получить новые знания о механизмах формирования толерантности к плоду, патоиммунных механизмах развития преэклампсии и задержки роста плода и будет способствовать лучшему пониманию патогенеза осложнений беременности и разработке эффективных методов их дифференциальной диагностики и прогнозирования перинатальных исходов. Цель и задачи соответствуют полученным в диссертации выводам. На основании полученных результатов автором сформулированы положения и практические рекомендации, что позволяет считать диссертационное исследование завершенным.

Принципиальных замечаний по диссертации нет.

На наш взгляд следовало бы конкретизировать в разделе «Практические рекомендации» при каких результатах определения антигликановых антител крови прогнозируются те или иные акушерские и перинатальные осложнения.

Это замечание не является критическим и не влияет на общую положительную оценку работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Зиганшиной Марины Михайловны «Иммунопатогенетическая концепция развития гликопатологии в системе мать-плацента-плод» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения и практические рекомендации, совокупность которых можно квалифицировать как крупное научное достижение, имеющее научно-практическое значение для патологической физиологии и иммунологии, а именно обосновано и доказано развитие гликопатологии, проявляющейся развитием патоиммунных углеводопосредованных реакций в системе мать-плацента-плод, которые определяют нарушения центральной и периферической толерантности при

патологической беременности, разработаны методы диагностики и прогнозирования материнских и неонатальных исходов при преэклампсии.

Диссертационная работа Зиганшиной Марины Михайловны «Иммунопатогенетическая концепция развития гликопатологии в системе мать-плацента-плод», в частности ее актуальность, научная новизна, достоверность полученных результатов и обоснованность сделанных выводов, соответствуют требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), а сама диссертант заслуживает присвоения искомой степени доктора биологических наук по специальностям «3.3.3. - Патологическая физиология» и «3.2.7. - Иммунология».

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ:

Заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией клинической биохимии и генетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
д.м.н., профессор

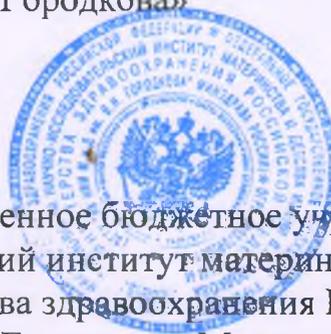


С.Б. Назаров

подпись профессора, д.м.н. С.Б Назарова «ЗАВЕРЯЮ»

Ученый секретарь ФГБУ
«Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова»
Минздрава России
К.м.н.

11 ноября 2024 года



Е.А.Матвеева

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России)
153045, Российская Федерация, г. Иваново, ул. Победы, д. 20.
Телефон: 8(4932)33-62-63 (приемная Директора)
E-mail: ivniimid@inbox.ru
Официальный сайт: <https://niimid.ru/>