

ОТЗЫВ

официального оппонента руководителя патологоанатомического отделения Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» (ГБУЗ МО МОНИАГ) доктора медицинских наук Бариновой Ирины Владимировны о научно-практической значимости диссертационной работы Низяевой Натальи Викторовны на тему «Морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика поражений плаценты и их роль в патогенезе преэклампсии», представленной на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 – «Патологическая анатомия»

Актуальность темы настоящего исследования

Актуальность темы исследования обусловлена отсутствием до настоящего времени единого взгляда на этиологию и патогенез преэклампсии, несмотря на большое количество теорий этого мультисистемного патологического состояния, осложняющего течение и неблагоприятно влияющего на исходы беременности. Эндотелиальная дисфункция как часть генерализованной воспалительной реакции, является маркером преэклампсии и вовлекает материнскую циркуляцию в плаценте и материнскую сосудистую систему. Здоровая беременность сопровождается состоянием обусловленного ею системного воспаления и, следовательно, преэклампсия может являться кульминацией материнского системного воспалительного ответа, вызываемого непосредственно беременностью. Прогностическое тестирование с поиском предикторов и биомаркеров преэклампсии, определяемых в биологических жидкостях и легко доступных для исследования, особенно актуально для клинического ведения беременных и разработки оптимального порядка оказания медицинской помощи в акушерстве. Научный и практический интерес представляют исследования по выявлению ключевых факторов развития преэклампсии с целью создания современных, малоинвазивных и информативных методов её диагностики и прогнозирования.

Ценность диссертационного исследования, проведённого Н.В. Низяевой, заключается в раскрытии новых аспектов патогенеза гипертензивных состояний и преэклампсии на основании исследования плаценты с применением широкого спектра современных методов, включая комплексное морфологическое исследование (макро- и микроскопическое иммуногистохимическое, исследование посредством трансмиссионного электронного микроскопа) в сочетании с молекулярными методами (полимеразной цепной реакции, хромогенной гибридизации *in situ* (CISH)). При этом был осуществлен анализ маркеров не только в ткани плаценты, но и в биологических жидкостях (кровь, моча), что делает исследование комплексным и завершённым.

Диссертация Низяевой Н.В. соответствует паспорту специальности 14.03.02 – «патологическая анатомия» по следующим областям исследования: морфологическое исследование - макроскопическое, микроскопическое, исследование с применением трансмиссионной электронной микроскопии, использование методов морфометрии (глава 3,4,5), оценка результатов иммуногистохимического исследования (разделы в главах 6, 8, 9, 10) выполнены на срезах ткани ворсинчатого дерева плаценты с применением компьютерной программы анализа изображения в единицах оптической плотности.

**Степень обоснованности и достоверности полученных научных
положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в
диссертации, их достоверность и новизна**

Обоснованность научных положений, сформулированных в диссертационной работе Низяевой Н.В., обусловлена адекватно поставленной целью и задачами исследования, использованием современных морфологических и молекулярно-генетических методов исследования. В работе получены значимые результаты, на основании которых сформулированы выводы и даны практические рекомендации. Объем

исследованной выборки является достаточным и соответствует требованиям биомедицинской статистики для получения значимых результатов, соответствует основным требованиям к научному исследованию. Все пациентки с преэклампсией ($n=237$) были разделены на группы по степени тяжести - тяжелую ($n=120$) и средней тяжести преэклампсию ($n=117$), а также по срокам развития – раннюю ($n=112$) с манифестацией до 34 недель и позднюю преэклампсию ($n=125$) с манифестацией после 34 недель. В группу сравнения были включены 473 условно здоровых женщин с неотягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом и неосложненным течением данной беременности. Дополнительной группой сравнения для женщин с ранней преэклампсией явилась группа беременных без гипертензивных расстройств, родоразрешенных оперативно до 34 недели ($n=66$).

Данные, изложенные в диссертации, не вызывают сомнений в достоверности. Оценка результатов иммуногистохимического исследования была произведена в единицах оптической плотности при помощи компьютерной системы анализа изображения Nis-Elements, исключающей влияние внешних факторов.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с применением современных методов статистического анализа с использованием среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD) в виде ($M \pm SD$). Значения численных данных, которые не являлись нормально распределенными, представлены в виде медианы (Me) и квартилей $Q1$ и $Q3$. Для оценки различий в группах применялся непараметрический метод статистики – критерий Краскела–Уоллиса, также достоверность рассчитывалась по U -критерию Манна–Уитни и принималась при значениях $p < 0.05$.

Диссертационная работа представляет собой научно-практический интерес, результаты которого расширяют представления о патогенетических механизмах развития преэклампсии, выполнена на современном научно-методическом уровне.

Научная новизна

В работе Н.В. Низяевой впервые получены данные о морфологических, иммуногистохимических, ультраструктурных особенностях мезенхимальных клеток стромы ворсин - телоцитов, их разновидностях и структурных особенностях, локализации, количестве, дифференцировке, значении в фиброзировании стромы ворсин и утолщении гемоплацентарного барьера при преэклампсии, специфическом иммуногистохимическом маркере телоцитов плаценты белке кальциевых каналов TMEM16a.

Впервые установлено, что плацента является источником продукции вазоконстрикторов: при преэклампсии в структурах плаценты выявлена повышенная экспрессия пептидов ангиотензина (Способ диагностики преэклампсии на сроках гестации до 34 недель по оценке уровней вазоконстриктора ANG (1–8) и вазодилататора ANG (1–7). Патент № RU2663456C1 от 06.08.18 г.).

Впервые выявлены характерные для преэклампсии ультраструктурные изменения ворсин плаценты - повреждения мембран синцитиотрофобласта, приводящие к поступлению фрагментов клеточных элементов крови плода в кровотоки матери. Установлено значимое повышение уровня внеклеточной фетальной ДНК в плазме крови при тяжелой преэклампсии и ранней преэклампсии.

Впервые показана способность плаценты, преимущественно трофобласта, к экспрессии ингибитора протеаз SERPINA1 (альфа-1-антитрипсин), описаны типы окрашивания (цитоплазматическое, мембранное, гранулярное), накопление SERPINA1 в пери-, межворсинчатом (фибриноид Лангханса) плодном фибриноиде, в области децидуальной пластинки (фибриноид Рора, Нитабух), что при преэклампсии является дополнительным фактором снижения инвазии трофобласта. Установлено характерное наличие пептидов SERPINA1 в моче беременных с тяжелой преэклампсией, что может явиться основой теста для определения степени тяжести преэклампсии.

Расширены теоретические представления о патогенезе преэклампсии на основании анализа экспрессии ряда микроРНК, участвующих в регуляции пролиферации, апоптоза, инвазии, про- и противовоспалительного ответа: описаны значимые снижения микроРНК-532-5p, -423-5p, -127-3p, -376a-5p, -539-5p, -519-3p в ткани плаценты при ранней и при поздней преэклампсии с повышением в плазме крови микроРНК-423-5p.

Впервые описан при преэклампсии ZBP-1 (DAI) – ДНК-распознающий рецептор, определяемый в ворсинчатом и вневорсинчатом цитотрофобласте, децидуальных клетках, мезенхимальных клетках стромы ворсин и эндотелии сосудов при преэклампсии с потерей экспрессии при нарастании степени ее тяжести (Способ диагностики тяжести преэклампсии на основании оценки экспрессии ДНК-распознающих рецепторов DAI-1 в ткани плаценты. Патент № RU2641029C1 от 15.01.18 г.).

В работе впервые представлено значение толл-подобных рецепторов врожденного иммунитета в развитии преэклампсии: показан гранулярный тип окрашивания TLR9 в цито-, синцитиотрофобласте, вневорсинчатом цитотрофобласте, при этом размер и количество гранул ассоциированы со степенью тяжести преэклампсии.

Значение выводов и рекомендаций, полученных в диссертации для науки и практики

В результате проведенного комплексного клинико-морфологического исследования плаценты установлены новые механизмы патогенеза преэклампсии. Автор показал, что синцитиотрофобласт представляет собой депо, содержащее большое количество гормоноподобных веществ, факторов роста, микроРНК, а также вазоактивных веществ и молекул, связанных с регуляцией артериального давления, которые поступая в кровотоки матери, способствуют поддержанию физиологического течения беременности.

На основании проведенного исследования оптимизированы принципы морфологической диагностики плацентарной дисфункции при преэклампсии,

что целесообразно использовать в практической работе патологоанатомических отделений.

В настоящем исследовании показаны новые пути решения проблемы диагностики и прогнозирования развития преэклампсии на основе анализа образцов плазмы крови и мочи. Диссертант представил взаимосвязь уровней маркеров преэклампсии в биологических средах и в структурах плаценты в зависимости от степени повреждения ворсинчатого дерева.

Повышение концентрации внеклеточной фетальной ДНК, начиная с 11-14 недель гестации, может быть важным тестом для прогноза вероятности развития преэклампсии до манифестации симптомов заболевания. Обнаружение пептидов SERPINA1 в моче позволяет выявлять пациенток с наиболее тяжелым течением преэклампсии. Значимое повышение концентрации микроРНК-423-5p в плазме крови при преэклампсии на сроках до 34 недель гестации может помочь акушеру-гинекологу в практической работе.

Общая характеристика и оценка содержания диссертации

Диссертация изложена на 336 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, глав, содержащих изложение материала и методов, восьми глав результатов собственных исследований, заключения, обсуждения полученных данных, приложений, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 513 отечественных и 58 иностранных источников. Диссертация содержит 25 таблиц и 44 рисунков.

Во введении автор обосновывает актуальность изучаемой проблемы, формулирует цель и задачи исследования, представляет новизну и практическую значимость выполненной работы. Содержание положений, выносимых на защиту, их обоснованность полученными результатами не вызывает никаких возражений.

В главе «Обзор литературы» раскрыты современные взгляды на вопросы этиологии и патогенеза преэклампсии. Обзор литературы написан

достаточно детально, отражает глубокие знания автора по изучаемой проблеме, написан хорошим литературным языком, содержит последние современные данные по изучаемому вопросу, легко и с интересом читается.

В главе «Материалы и методы исследования» четко изложена клиническая характеристика обследованных пациенток, деление на группы, описаны методы исследования. Исследование проведено на современном уровне с помощью комбинации высокотехнологичных методов - гистологического, иммуногистохимического, трансмиссионной электронной микроскопии, морфометрии, жидкостной масс-спектрометрии, иммуноферментного анализа, хромогенной гибридизации *in situ* (CISH), ПЦР в реальном времени.

В главах, посвященных результатам исследования, описывается общая клиническая характеристика обследованных пациенток, дается полная морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика плаценты для каждой группы пациентов в зависимости от клинического варианта и степени тяжести преэклампсии. В работе представлены также полученные данные о содержании ряда маркеров в образцах плазмы крови: метаболитах ренин-ангиотензиновой системы (ангиотензин II, ангиотензин 1-7), внеклеточной фетальной ДНК, сведения о профиле малых некодирующих РНК; также в образцах мочи беременных было изучено содержание SERPINA1 в зависимости от степени тяжести преэклампсии.

Диссертантом расширены теоретические представления о патогенезе преэклампсии на основании анализа взаимосвязи малых некодирующих РНК, микроРНК и их мишеней, участвующих в регуляции пролиферации, апоптоза, инвазии, про- и противовоспалительного ответа. Н.В. Низяевой установлено снижение экспрессии в ткани плаценты наиболее специфичных для трофобласта микроРНК-127-3р, -376а-5р, -423-5р, -519-3р, -532-5р, -539-5р вне зависимости от сроков клинической манифестации преэклампсии, что отражает дисфункцию плаценты и неполноценность трофобласта при этом осложнении беременности.

С помощью многофакторного анализа Н.В. Низяевой разработаны диагностические и прогностические тесты для презклампсии.

При обсуждении полученных данных автором дан глубокий анализ проведенных исследований, а также сравнение их с данными литературы.

Высокая степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений. В работе использованы современные методы исследования, адекватные поставленным целям и задачам, позволяющие объективно оценить полученные результаты. Статистическая обработка материала проведена по общепринятым критериям с использованием компьютерного анализа. Выводы и практические рекомендации логичны, актуальны, обоснованы достаточным фактическим материалом и вытекают из сути работы, достаточно полно отражают её содержание.

По материалам диссертации опубликованы 82 печатные работы, в том числе 29 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации материалов докторских и кандидатских диссертаций. Три статьи опубликованы в международных англоязычных изданиях, результаты 19 исследований были представлены на Европейских международных конгрессах (2014–2019); автор имеет 2 патента. Научно-практическая значимость обсуждена на заседании Учёного Совета федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Принципиальных замечаний по работе нет, научная и практическая важность диссертационного исследования не вызывает сомнения.

Заключение

Диссертационная работа Низяевой Натальи Викторовны на тему «Морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика поражений плаценты и их роль в патогенезе преэклампсии», представленная на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 – «патологическая анатомия» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение проблемы патогенеза преэклампсии на основании комплексного подробного анализа морфологических и молекулярно-генетических изменений ткани плаценты, представлены новые аспекты патогенеза преэклампсии. Настоящая работа имеет существенное значение для патологической анатомии и акушерства и гинекологии.

Диссертация полностью соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук: п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакциях Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748, от 01.10.2018г. №1168)), а её автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Руководитель патологоанатомического отделения
Государственного бюджетного учреждения здравоохранения
Московской области «Московский областной научно-исследовательский
институт акушерства и гинекологии» ГБУЗ МО МОНИИАГ
доктор медицинских наук

И.В. Барина

Подпись доктора медицинских наук
И.В. Бариновой заверяю
Ученый секретарь ГБУЗ МО МОНИИАГ
д.м.н.

30.09.2021



И.Г. Никольская

Государственное бюджетное учреждение
здравоохранения Московской области «Московский областной научно-
исследовательский институт акушерства и гинекологии» ГБУЗ
МО МОНИИАГ

Адрес: 101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а

Тел: +7 (495) 621-97-00

E-mail: barinova.irina.vladimirovna@gmail.com

Сайт: <https://moniiag.ru/>