

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА
ИМЕНИ АКАДЕМИКА А.П. АВЦЫНА»**
(ФГБНУ НИИМЧ им. ак. А.П. Авцына)

117418, г. Москва, ул. Цюруцы, д. 3

Тел/факс 8 (499) 120-80-65 – директор; 8 (499) 120-43-03 – зам. директора по научной работе
8 (499) 120-95-86 – зам. директора по общим вопросам; 8 (499) 120-94-79 – руководитель финансового и
имущественного направления; 8 (499) 120-44-08 – бухгалтерия; 8(499) 129-51-01 – отдел кадров
e-mail: morfolhum@mail.ru; www.morfolhum.ru

Р/сч.40501810845252000079 БИК 044525988; Г/У Банка России по ЦФО/УФК по г. Москве;
Л/сч. 20736Ц36910; Номер казначейского счета 032146430000000017300; БИК ТОФК 004525988;
Номер единого казначейского счета 40102810545370000003; ИНН 7727038641/ КПП 772701001

Исх. № 01/235

«16» августа 2021 год



УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ «НИИ морфологии человека
им. акад. А.П. Авцына»

д.м.н., профессор

Л.М. Михалева

«16» августа 2021 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына» (ФГБНУ НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына) 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 к защите в Диссертационный Совет Д208.072.04 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России на соискание учёной степени доктора медицинских наук

Актуальность выполненной работы и ее связь с соответствующими
отраслями и практической деятельностью

Диссертационная работа Низяевой Н.В. посвящена актуальной проблеме

современной медицины — анализу морфологических и молекулярно-генетических поражений плаценты тяжелейших осложнений беременности преэклампсии, являющейся одной из причин материнской и младенческой смертности.

Актуальность темы исследования представляет большой научный интерес, поскольку, несмотря на огромное число исследований, посвященных изучению преэклампсии, её этиология и патогенез всё ещё недостаточно изучены, а частота на сегодняшний день не имеет тенденции к снижению.

Хотя наиболее изученной причиной ПЭ считается неполноценное ремоделирование спиральных артерий, однако было показано, что не у всех женщин с плохой инвазией цитотрофобласта развивается ПЭ, и не у всех женщин с преэклампсией имеет место плохая инвазия цитотрофобласта. Существует множество патогенетических теорий ПЭ: плацентарная, иммунологическая, нейрогенная, гормональная, метаболическая, воспалительная, генетическая и др. При этом каждая из них в отдельности интерпретирует только часть изменений и не может объяснить весь симптомокомплекс, наблюдаемый в организме беременной. В зависимости от времени возникновения манифестации клинических симптомов заболевания, выделяют раннюю и позднюю ПЭ (до и после 34 недель гестации).

Раскрытие механизмов преэклампсии будет способствовать улучшению методов диагностики и созданию таргетной терапии, что позволит усовершенствовать тактику ведения беременных и улучшить прогноз у данной группы женщин. В данном аспекте чрезвычайно важным является разработка патогенетически обоснованных подходов к диагностике и прогнозированию заболевания до манифестации клинических симптомов.

Связь с планами соответствующих отраслей наук

Диссертационная работа Низяевой Н.В. выполнена в соответствии с основными направлениями программы научных исследований федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В представленной работе показано, что комплексный подход при проведении исследования позволяет автору представить новые механизмы патогенеза преэклампсии, при этом была особо выделена роль плаценты. Автором было подчеркнuto, что в основе манифестации клинических симптомов ПЭ и определении ее тяжести лежит степень повреждения гемоплацентарного барьера, а именно повреждение синцитиотрофобласта. Помимо известных функций диссертант сделал на способности плаценты секретировать большое количество различных молекул, которые, попадая в кровотоки матери, способны регулировать артериальное давление. При преэклампсии возникают выраженные нарушения в системе регуляции артериального давления, в том числе в ренин-ангиотензиновой системе. Увеличение уровня вазоконстриктора ангиотензина II (1-8) на фоне недостаточной продукции ангиотензина (1-7) является важным патогенетическим звеном преэклампсии. Повышение экспрессии пептидов ангиотензина в структурах плаценты при преэклампсии, поступление их вместе с фрагментами повреждённых клеток трофобласта в кровотоки матери

подтверждают альтернативную роль плаценты в продукции вазоконстрикторов при беременности.

Кроме того, структуры плаценты способны вырабатывать ингибиторы протеаз (SERPINA1), активировать провоспалительный ответ, а также посредством микроРНК, осуществлять регуляцию функции ряда генов прежде всего связанные с инвазией, пролиферацией, дифференцировкой клеток.

В работе впервые показана способность плаценты к экспрессии ингибитора протеаз SERPINA1 трех типов окрашивания: цитоплазматического, мембранного и гранулярного, также описано накопление SERPINA1 в депозитах плодного фибриноида, что является дополнительным фактором снижения инвазии трофобласта при преэклампсии. Более того, при определении методом масс-спектрометрии пептидов SERPINA1 в моче имели место у женщин, страдающих тяжелой преэклампсией. Наличие SERPINA1 в моче коррелировало с тяжестью клинического течения преэклампсии, прежде всего с выраженностью артериальной гипертензией и протеинурией, а также нарушениями в системе свертывания крови.

В работе приведены данные, выполненные посредством электронной микроскопии. В ворсинах плаценты обнаружено наличие гетерогенной популяции клеток мезенхимального происхождения, телоцитов, отличающихся локализацией, ультраструктурными характеристиками и различной экспрессией иммуногистохимических маркеров. Впервые описан белок кальциевых каналов, TMEM16a как маркер для идентификации телоцитов плаценты.

Посредством иммуногистохимии были проведён анализ экспрессии рецепторов врожденного иммунитета в гистологических структурах плаценты TLRs, NOD-1, RIG-1, RIG-1. Было выявлено, что при тяжёлой ПЭ в синцитиотрофобласте преобладает цитоплазматическое окрашивание, а при

умеренной ПЭ – мембранное. Впервые в плаценте была описана экспрессия в структурах плаценты ДНК-распознающего рецептора ZBP-1 (DAI), а также гранулярный тип окрашивания TLR9 для ворсинчатого и вневорсинчатого трофобласта, при этом увеличение количества и размера гранул коррелировало с тяжестью преэклампсии.

Значимость результатов исследования для науки и клинической практики

В настоящей работе для достижения цели и решения поставленных задач автор была использована комбинация современных морфологических и молекулярных методов исследования: макроскопическое и гистологическое исследование плаценты, представлено исследование посредством электронной микроскопии в сочетании с иммуногистохимическим исследованием, ПЦР в реальном времени, метода хромогенной гибридизации *in situ*. Наряду с этим, применялся иммуноферментный анализ, жидкостная хромато-масс-спектрометрия, ПЦР (образцов плазмы крови и мочи).

Сочетание морфологических методов исследования плаценты с современными молекулярными методиками дали возможность автору представить новые механизмы патогенеза преэклампсии.

Автором было показано, что повышение соотношения вазоконстриктора ангиотензина II (1-8) по отношению к вазодилататору ангиотензина (1-7), повышение уровня фетальной ДНК, в плазме крови могут быть использованы как показатели тяжести преэклампсии. Наряду с этим, в плазме крови матери при ранней преэклампсии отмечено значимое повышение микроРНК-423-5p. Определение пептидов SERPINA1 в моче при преэклампсии может быть полезно при выявлении пациенток с наиболее тяжёлым течением преэклампсии. Более того, в результате выполненного перспективного исследования оценки фетальной ДНК в материнской плазме,

начиная с 11 недель гестации позволяет прогнозировать развитие преэклампсии до манифестации клинических симптомов заболевания.

Рекомендации по дальнейшему использованию результатов и выводов

Полученные результаты исследования представляют интерес для патологической анатомии, акушерства и гинекологии, молекулярной биологии, клинической лабораторной диагностики, неонатологии.

Экономический эффект от внедрения будет определяться повышением качества диагностики ПЭ и прогнозирования заболевания до манифестации клинических проявлений, что позволит улучшить результаты лечения пациенток.

Сформулированные в работе Низяевой Н.В. теоретические сведения используются в процессе обучения ординаторов кафедры неонатологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, а также при обучении студентов 3 курсов в курсе патологической анатомии в главе «Болезни женских половых органов. Патология беременности и родов» на кафедре патологической анатомии и клинической патологической анатомии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Данные, изложенные в диссертации, рекомендовано внедрить в образовательные программы для преподавания студентам и курсантам высших учебных заведений, на кафедрах по специальностям патологическая анатомия, гистология, эмбриология, акушерство и гинекология.

Результаты научных исследований Низяевой Н.В. внедрены в практику работы патологоанатомических отделений ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница» Департамента здравоохранения г. Москвы, ГБУЗ «Городская клиническая больница №1 им. Н.И. Пирогова» Департамента здравоохранения г. Москвы и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Оценка содержания работы

Рецензируемая работа изложена на 336 страницах печатного текста, содержит 25 таблиц и 44 рисунка; состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, представлено восемь глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений.

Основная цель настоящего исследования явилось заключалась в анализе морфологических и молекулярно-генетических поражений плаценты и установление их роли в патогенезе преэклампсии.

Во введении чётко отражены задачи исследования, актуальность исследования, сделан акцент на нерешенных вопросах патогенеза преэклампсии, определены цель и задачи исследования, которые логически вытекают из цели. Формулировка научной новизны и положений, выносимых на защиту, не вызывает никаких возражений.

Литературный обзор отражает современные представления об исследованиях, посвященные преэклампсии и дает полное представление о

состоянии проблемы. Библиографический список включает 571 источник – 58 на русском, 513 на английском языках.

Результаты собственных исследований подробно представлены, обобщены, в конце каждой главы приведено обсуждение полученных результатов исследования. Выводы соответствуют целям и задачам диссертации.

Глава «Материалы и методы исследования» содержит информацию о применяемых методиках: морфологических методах исследования, включая гистологическое исследование с окраской гематоксилином и эозином, метиленовым синим, а также исследование посредством трансмиссионного электронного микроскопа, а также молекулярных методов исследования плаценты (иммуногистохимия, хромогенная гибридизация *in situ*), и образцов плазмы крови и мочи (ПЦР в реальном времени, иммуноферментный анализ жидкостная хромато-масс-спектрометрия).

Следует отметить, что количество приведённых наблюдений достаточное для диссертационной работы. Группы тщательно сформированы по степени тяжести и срокам гестации. Группы сравнения были подобрана в зависимости от срока манифестации клинических проявлений (до и после 34 недель гестаации); критерии включения и исключения в исследование подробно описаны. Дизайн исследования включал ретроспективный и проспективный этапы. Статистическая обработка выполнена с применением современных методов статистического анализа.

Результаты собственных исследований хорошо систематизированы. Низяевой Н.В. было показано, что важное значение при оценке тяжести преэклампсии имеет оценка состояния ворсинчатого дерева и степень повреждения ворсин плаценты, прежде всего, трофобласта, а также уровень фиброза стромы ворсин, повреждением, что было подтверждено как гистологическим исследованием с применением методов морфометрии, так анализом микрофотографий, выполненных посредством трансмиссионной

электронной микроскопии. Высокая степень повреждения трофобласта ворсин плаценты отражает увеличение уровня фетальной ДНК в материнском кровотоке, начиная с 11–14 недель гестации. Так же автор объясняет, что повреждение мембран приводит к поступлению в кровоток матери клеток и является причиной повышения фетальной ДНК в плазме крови. Рецепторы врождённого иммунитета во время беременности могут быть вовлечены в патогенез преэклампсии, запуская сигнальный каскад роль лигандов которых могут выполнять фрагменты поврежденных клеток организма матери, а также ДНК плода.

Важным разделом диссертации посвящен особенностям телоцитов плаценты при преэклампсии. В ворсинах плаценты описана гетерогенная популяция телоцитов, отличающихся локализацией, ультраструктурными и иммуногистохимическими особенностями. В качестве маркера описан TMEM16a для идентификации телоцитов плаценты. При преэклампсии под действием гипоксии, оксидативного стресса, происходит трансформация телоцитов в фибробласты и фиброциты, что проявляется ультраструктурными признаками (увеличением размеров клеток и отростков, увеличением их синтетической активности), при этом клетки перестают экспрессировать маркеры TMEM16a –, CD34 –, CD117–.

Таким образом, научные положения и практические рекомендации, сформулированные автором в диссертации, основаны на изучении достаточного объема клинического материала. В работе использованы современные методы исследования, полностью соответствующие поставленным задачам. Выводы аргументированы и вытекают из проведенных автором исследований. Выполненная работа является перспективной для дальнейших исследований, направленных на изучение морфологии плаценты, поиска новых маркеров преэклампсии и создание новых диагностических тестов.

Результаты диссертации широко представлены в форме докладов на российских и международных конференциях и конгрессах. По итогам работы опубликовано 82 статей и тезисов, из которых 29 статей в научных изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, три статьи опубликованы в международных высокорейтинговых журналах. Автором зарегистрировано 2 патента. Автореферат диссертации полностью отражает содержание работы. Принципиальных замечаний по рецензируемой диссертации не имею.

Заключение

Диссертационная работа 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», является законченной научно-квалификационной работой, выполненной при научном консультировании профессора, д.м.н. Щеголева Александра Ивановича, содержащей новые подходы к проблеме диагностики и предикции преэклампсии, на основании сопоставления уровня молекулярно-генетических маркеров в ткани плаценты и в биологических жидкостях (плазма крови, моча), что имеет имеющее существенное значение для патологической анатомии, акушерства и гинекологии и общества в целом.

Диссертация в полной мере соответствует требованиям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней, установленных п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской

Федерации №335 от 21.04.2016 г. И № 746 от 2.08.2016 г.), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а диссертант Низяева Наталья Викторовна заслуживает присуждения искомой степени по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Отзыв о научно практической значимости диссертации Низяевой Натальи Викторовны на тему «Морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика поражений плаценты и их роль в патогенезе преэклампсии» обсужден и одобрен на заседании Ученого Совета Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына» (протокол № 5 от «12 августа» 2021 г.)

Главный научный сотрудник лаборатории патологии женской репродуктивной системы федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына»

д. м.н., профессор

Милованов Андрей Петрович

Подпись д.м.н., профессора А.П. Милованова заверяю:

зам. директора по научной работе федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына»,

к.б.н.



Безуглова Татьяна Васильевна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына» (ФГБНУ НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына) 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3; Телефон: (499)120-80-65, E-mail: morfolhum@mail.ru