

Министерство здравоохранения  
Российской Федерации  
федеральное государственное бюджетное  
учреждение «Ивановский научно-  
исследовательский  
институт материнства и детства  
имени В. Н. Городкова»

153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20.  
тел.: 33-62-63; факс: 33-62-56;  
Эл. почта: ivniimid@inbox.ru.

« 18 » мск 2021 года № 09-36

Утверждаю  
Директор ФГБУ «Ив НИИ МиД им.  
В.Н. Городкова» Минздрава России  
д-р мед.наук, профессор

А.И. Малышкина



## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации

Андреевой Евгении Александровны на тему «Иммуноактивные факторы фолликулярной жидкости у женщин в программе экстракорпорального оплодотворения», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

## Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа Андреевой Е.А. посвящена изучению регуляторных клеток и иммуноактивных факторов (цитокинов, свободной ДНК, микровезикул) в фолликулярной жидкости (ФЖ) женщин и их значимости как прогностических биомаркеров эффективности экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Исследование основано на результатах обследования 89 женщин с бесплодием, проходивших лечение методом ЭКО. Оогенез является сложным процессом, который требует

скоординированной работы иммунной и репродуктивной систем. Особое значение имеют ранние этапы репродуктивного процесса, непосредственно влияющие на качество ооцитов, что определяет дальнейшую способность яйцеклетки к оплодотворению. Учитывая, что оценка компетентности ооцитов осуществляется только морфологически, а эффективность ЭКО даже при хороших эмбриологических показателях не превышает 50%, работа Андреевой Е.А., несомненно, является актуальной как в фундаментальном, так и в прикладном аспектах.

### **Связь диссертационной работы с планами соответствующих отраслей науки**

Диссертационная работа Андреевой Е.А. выполнена в соответствии с планом НИР федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ) на базе лаборатории клеточной иммунотерапии. Работа соответствует приоритетному тематическому направлению развития науки Российской Федерации «Науки о жизни» (критические технологии, «Технологии снижения потерь от социально значимых заболеваний», «Клеточные технологии»). Основные положения диссертации доложены и обсуждены: на отчетных конференциях аспирантов и ординаторов НИИФКИ (Новосибирск 2016, 2017), XVI Всероссийском научном форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (8 июня 2017, г. Санкт-Петербург), III, IV, V международных конгрессах «Новые технологии в акушерстве, гинекологии, перинатологии и репродуктивной медицине» (апрель 2017, 2019, 2021 гг. Новосибирск), 18 всемирном конгрессе «Международного общества гинекологической эндокринологии» ISGE 2018 (8 марта 2018, г. Барселона, Испания).



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

Большинство исследований в предметной области посвящены изучению поиска биомаркеров в сыворотке женщин, в то время как соискателем в качестве объекта исследования выбрана фолликулярная жидкость женщин. Кроме того, проведен анализ содержания FoxP3<sup>+</sup>-клеток и иммуноактивных факторов в ФЖ женщин не только в стимулированных гонадотропинами циклах ЭКО, но и в естественных циклах, а также в ФЖ женщин, участвующих в программе донации ооцитов. Показано наличие в ФЖ женщин различных субпопуляций FoxP3<sup>+</sup>-регуляторных клеток (CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>). При этом показано, что более высокое содержание CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>-клеток в ФЖ сопряжено с большим числом преовуляторных фолликулов, формированием бластоцист лучшего качества и позитивными исходами ЭКО. Получены новые данные о наличии в ФЖ женщин как в стимулированных, так и в естественных циклах детектируемого уровня свДНК. При этом отмечено, что уровень свДНК при стимулированной овуляции значимо выше, чем в естественных циклах. Впервые показано, что более высокое содержание свДНК в ФЖ ассоциировано с длительностью бесплодия, высоким уровнем антимюллера гормона (АМГ) и большим числом антральных фолликулов. Показано, что высокий уровень свДНК сопряжен с низким качеством бластоцист и отрицательным исходом ЭКО. Расширены представления о роли микровезикул в репродуктивном процессе, в частности, обнаружено более высокое содержание Ann<sup>+</sup>CD107a<sup>+</sup>, Ann<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>, Ann<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup> MB в ФЖ женщин, у которых впоследствии наступала и прогрессировала беременность. Полученные данные характеризуют новые предикторы наступления беременности в программе ЭКО и обосновывают возможность их клинического применения.

## **Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов**

Диссертационная работа Андреевой Е.А. является пилотным исследованием, характеризующим связь между содержанием в ФЖ FoxP3<sup>+</sup> -регуляторных клеток, иммуноактивных факторов и показателями оо- и эмбриогенеза. Обнаружена взаимосвязь FoxP3<sup>+</sup> -регуляторных клеток, свободной ДНК, микровезикул с ранними этапами репродуктивного процесса: с количеством фолликулов, ответивших на стимуляцию суперовуляции, с числом получаемых ооцитов в ходе трансвагинальной пункции яичников, с индексом оплодотворения и качеством полученных эмбрионов.

Практическую ценность представляют результаты по сопряженности уровней свДНК и МВ в ФЖ и наступлением беременности. Проведенный анализ позволил рассматривать содержание свДНК и популяций МВ в ФЖ в качестве прогностических критериев наступления беременности в программах ЭКО.

Диссертационная работа Андреевой Е.А. представляет собой завершенное исследование, достоверность результатов которого не вызывает сомнений. Работа выполнена на достаточном материале (образцы ФЖ от 89 женщин). Работа включает исследования, выполненные с привлечением современных иммунологических методов и адекватных методов статистической обработки данных. Выводы диссертационной работы корректны и полностью отражают полученные результаты. Автор лично участвовал в разработке исследования, рекрутировании пациентов и проведении иммунологических исследований. Обработка полученных данных и статистический анализ проведены соискателем самостоятельно.

Результаты работы апробированы и представлены в виде докладов на российских и зарубежных научно-практических мероприятиях. По материалам диссертационной работы опубликовано 14 печатных работ,



включая 5 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией для опубликования основных научных результатов диссертации (из них 4 – в журналах, индексируемых в базе Scopus, 1 - в журнале, индексируемом в базе Web of Science).

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Научные положения и выводы диссертационной работы Андреевой Е.А. представляют интерес для широкого круга специалистов в области иммунологии, акушерства и гинекологии, репродукции, клеточной биологии.

Материалы диссертации могут использоваться в программах обучения студентов медицинским и естественным наукам, подготовке врачей-ординаторов, а также представлять интерес для научных организаций, занимающихся фундаментальными и прикладными исследованиями в области иммунологии, акушерства и гинекологии, репродукции, клеточной биологии и клеточной терапии. Продемонстрированная Андреевой Е.А. взаимосвязь FoxP3<sup>+</sup> - регуляторных клеток и иммуноактивных факторов с ранними этапами репродуктивного процесса (количество фолликулов/ооцитов, индекс оплодотворения, качество получаемых эмбрионов), свидетельствует о важной функции изучаемых факторов в процессе оо- и эмбриогенеза. Относительное количество свДНК, МВ в ФЖ женщин являются диагностически значимыми биомаркерами качества эмбриона и наступления беременности, что позволяет прогнозировать наступление беременности в циклах ЭКО.

Диссертационная работа Андреевой Е.А. имеет классическую структуру, состоит из введения, обзора литературы (Глава 1), описания материалов и методов исследования (Глава 2), результатов собственных исследований (Глава 3) и их обсуждения (Глава 4) заключения, выводов, списков сокращений и цитируемой литературы (252 литературных

источников). Текст изложен на 143 страницах машинописного текста, включающего 14 таблиц и 16 рисунков.

Во введении соискатель обосновывает целесообразность проведения диссертационной работы, формирует ее цель и задачи. В обзоре литературы автором приведены данные об иммунокомпетентных клетках и иммуноактивных факторах, содержащихся в фолликулярной жидкости. Кроме того, автор достаточно широко осветил проблему бесплодия, существующие подходы к его преодолению, обосновал необходимость поиска новых предикторов наступления беременности в программах ЭКО. Обзор свидетельствует о квалифицированном владении автором современной литературой и уверенной ориентации в выбранной области исследования. Глава 2 содержит детальное описание объекта исследований и методов, используемых для решения поставленных задач. Обращают внимание сложность и современный уровень подходов, использованных в работе. Глава 3 содержит описание результатов собственных исследований и включает 5 разделов. В первом разделе показано наличие FoxP3<sup>+</sup> клеток в ФЖ, а также выявлена их ассоциация с меньшим количеством фолликулов, ооцитов, лучшим качеством эмбрионов и наступлением беременности в программе ЭКО. Во втором разделе автором было показано, что уровень свДНК сопряжен с нарушениями овариального резерва, низким качеством эмбрионов и отрицательным исходом программы ЭКО.

В третьем разделе автор излагает данные о вовлечении цитокинов в процесс фолликулогенеза и раннего эмбриогенеза. Уровень IL-6 ассоциировался с наибольшим количеством фолликулов, низким индексом оплодотворения (на уровне тенденции), а также эмбрионами низкого качества и отсутствием беременности (на уровне тенденции) в программе ЭКО. В то время как высокий уровень IL-8 был достоверно выше у женщин с минимальным количеством фолликулов. Кроме того, в данном разделе представлен корреляционный анализ между уровнем IL-6 и содержанием CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> клеток, свидетельствующий о влиянии IL-6 на формирование



пула регуляторных клеток в ФЖ. А также представлен корреляционный анализ между свДНК и IL-8, что свидетельствует о том, что данные факторы являются независимыми, и выброс свДНК не сопряжен с увеличением содержания IL-8.

Раздел 4 посвящен изучению содержания МВ в ФЖ женщин, в результате которого было обнаружено повышение уровня  $\text{AnnV}^+$  и  $\text{AnnV}^+\text{CD107a}^+$  у женщин старшей возрастной группы, а большая длительность бесплодия ассоциировалась с более высоким уровнем МВ:  $\text{AnnV}^+\text{CD45}^+$ ,  $\text{AnnV}^+\text{CD206}^+$ ,  $\text{AnnV}^+\text{CD14}^+$ . В то же время более высокий уровень  $\text{AnnV}^+\text{CD206}^+$  отмечался в ФЖ женщин с высоким индексом оплодотворения и наступлением клинической беременности. В разделе 5 автор описывает обнаруженные ранние прогностические маркеры наступления беременности, что расширяет представления о роли иммунной системы на этапе оогенеза и раннего эмбриогенеза. Полученные данные могут быть использованы в качестве прогностических критериев наступления беременности при стимуляции суперовуляции и позволят скорректировать тактику адоптивной терапии у женщин в программах ЭКО. В главе 4 приводится развернутое обсуждение полученных результатов с привлечением сведений литературы. Диссертация завершается обобщающим заключением, что существенно облегчает анализ представленной информации.

Результаты собственных исследований изложены понятно, последовательно и аргументировано. Выводы соответствуют поставленным целям и задачам и полностью отражают результаты выполненного исследования.

Автореферат включает основные положения, выносимые на защиту, и полностью соответствует содержанию основных разделов диссертации. Содержание диссертационной работы соответствует паспорту специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

## Замечания и вопросы по диссертационной работе

Принципиальных замечаний, снижающих ценность представленного диссертационного исследования, нет. Однако, в ходе изучения диссертационной работы возник следующий уточняющий **вопрос**:

Почему в качестве объекта исследования была выбрана фолликулярная жидкость женщин, а не другие среды, допустим, культуральная среда эмбрионов?

## Заключение

Таким образом, диссертация Андреевой Евгении Александровны «Иммуноактивные факторы фолликулярной жидкости у женщин в программе экстракорпорального оплодотворения» на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится оценка содержания ИКК и иммуноактивных факторов в ФЖ женщин и их связь с параметрами оо/эмбриогенеза. Более того, произведен поиск новых биомаркеров исходов программы ЭКО. Полученные результаты имеют важное значение для развития клинической иммунологии и аллергологии и медицинской науки в целом.

Диссертационная работа Андреевой Евгении Александровны отвечает требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании лаборатории клинической иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения



«Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол заседания №6 от 14.05.2021.

Отзыв составил

Заведующая лабораторией  
клинической иммунологии  
ФГБУ «Ивановский НИИ  
материнства и детства им. В.Н.  
Городкова», доктор медицинских  
наук, профессор, заслуженный  
врач РФ



Сотникова Наталья Юрьевна

дата 18.05.2021 г.

Подпись доктора медицинских наук, профессора Сотниковой Н.Ю. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «ИвНИИ Мид им. В.Н. Городкова» Минздрава  
России,  
к.м.н.



Матвеева Е.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации  
153045, Российская Федерация, г. Иваново, ул. Победы, д. 20  
Тел.: 89066193653  
E-mail: niimid..immune@mail.ru

