

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Чистяковой Гузель Нуховны на диссертацию Андреевой Евгении Александровны «Иммуноактивные факторы фолликулярной жидкости у женщин в программе экстракорпорального оплодотворения», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Актуальность избранной темы. В последние десятилетия благодаря внедрению в широкую практику вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) достигнуты большие успехи в планировании беременности у пар с бесплодием. Однако, несмотря на совершенствование методов ВРТ, эффективность процедур экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) даже при высоком качестве эмбрионов не превышает 50%. В первую очередь это связано с нарушением фолликулогенеза, что приводит к образованию ооцитов низкого качества. На данный момент, оценка компетентности ооцитов в клинической практике осуществляется только морфологически, чего явно недостаточно. Известно, что помимо клеток гранулезы и теки в преовуляторном фолликуле локализованы иммунные клетки, в частности Т-регуляторные клетки (Т-рег), моноциты, макрофаги. Однако современные представления о механизмах взаимодействия иммунной системы на этапе оогенеза и раннего эмбриогенеза изучены недостаточно, что указывает на важность исследования факторов, способных влиять на исходы ЭКО и биомаркеров, определяющих качество стимуляции суперовуляции.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется адекватным планированием. Размер выборки отвечает требованиям для получения статистически значимых результатов: под наблюдением находились и были обследованы 89

женщин, из них: 10 женщин участвовали в программе донации ооцитов, 75 женщин с бесплодием проходили лечение методом ЭКО в цикле стимулированной овуляции, 4 – в естественном цикле (без стимуляции гонадотропинами). Разработанный многоэтапный дизайн работы, позволил многосторонне изучить проблему и решить все поставленные задачи.

Результаты получены на сертифицированном оборудовании с использованием современных и высокоинформативных методов исследования с определением в фолликулярной жидкости популяций регуляторных клеток (CD4+Foxp3+, CD4-Foxp3+, CD4+CD25+Foxp3+ и CD4+CD25-Foxp3+), уровня цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN γ , TNF α), содержания микровезикул методом проточной цитометрии и свДНК методом флуориметрии. На основании разностороннего статистического анализа полученных данных сформулированы основные положения, выносимые на защиту, выводы и конкретные практические рекомендации.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость

Значение диссертационной работы заключается в выявлении новых биомаркеров, характеризующих эффективность стимуляции суперовуляции в циклах ЭКО. Эффективные циклы ЭКО ассоциированы с более высокими показателями – количества FoxP3⁺ регуляторных клеток, уровня IL-8, а также содержания AnnV⁺CD107a⁺ и AnnV⁺CD206⁺ микровезикул в ФЖ. В то же время высокий уровень св.ДНК и IL-6 ассоциирован с отрицательным исходом ЭКО. Определены пороги содержания свДНК (<34,7 нг/мл), Ann⁺CD206⁺MB (>12,7 MB/мкл), Ann⁺CD107a⁺MB (>9,6 MB/мкл), которые можно рассматривать как прогностические критерии позитивных исходов ЭКО. Определение данных биомаркеров у женщин в стимулированных циклах позволит провести своевременную коррекцию терапии сопровождения и повысить эффективность ЭКО. Полученные данные

используются при подготовке студентов Новосибирского государственного университета по программе «Клиническая иммунология».

По материалам диссертации опубликовано 14 работ, из них 5 оригинальные статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертационных работ, из них 1 статья, индексируемая в базе Web of Science.

Оценка содержания диссертации, и ее завершенность

Работа написана по классической схеме. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения и выводов. Диссертация изложена на 143 страницах, библиографический указатель включает 252 источника литературы из них 237 зарубежных. Работа иллюстрирована 16 рисунками, включает 14 таблиц. Во «Введении» кратко охарактеризована актуальность темы исследования, обозначены проблемы, сформулированы цели и задачи. Обзор литературы объясняет понятие иммунологической толерантности, а также описывает существующие методы. Для решения поставленных задач автор использовал широкий спектр современных методов иммунологии и молекулярной биологии. В работе использовалась фолликулярная жидкость женщин проходивших процедуру ЭКО, на что было получено информированное добровольное согласие и разрешение этического комитета. В разделе «Результаты» представлены экспериментальные данные, которые логично скомпонованы и отображены в таблицах или иллюстрациях. Глава «Обсуждение» представляет собой авторскую интерпретацию полученных данных в контексте мировой литературы о роли иммунокомпетентных клеток и иммуноактивных факторах. Далее следует раздел «Заключение», который удачно резюмирует результаты исследования. Выводы соответствуют поставленным задачам, которые логично вытекают из цели исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя

В целом, диссертация Андреевой Евгении Александровны выполнена и оформлена в соответствии с предъявляемыми современными требованиями, является самостоятельным, логически завершенным научным исследованием, в котором предложено решение важных научных и практических задач: определение прогностических биомаркеров вероятности наступления беременности в циклах ЭКО. Основные положения диссертации отражены в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Замечания. В целом принципиальных замечаний к диссертации нет. В процессе ознакомления возник ряд вопросов.

1. Как Вы считаете после завершения работы – можно ли считать $CD4^{+}FoxP3^{+}$ Т-клетки истинными $CD8^{+}FoxP3^{+}$ Т-клетками?
2. Есть ли необходимость анализировать содержание других популяций ИКК в ФЖ с целью выявления прогностических маркеров?
3. Является ли перспективным исследовать изучаемые иммуноактивные факторы в других средах (среда для культивирования эмбрионов; содержимое бластоцели у эмбрионов на 5 сутки развития)?

Заключение. Кандидатская диссертация Андреевой Евгении Александровны «Иммуноактивные факторы фолликулярной жидкости у женщин в программе экстракорпорального оплодотворения», выполненная под руководством д.м.н. Хониной Натальи Алексеевны является законченной научно-квалификационной работой, в которой представлены результаты разработки и анализа двух методов направленных на поиск новых маркеров результативности циклов ЭКО.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте изложения материалов диссертационного исследования в рецензируемых печатных научных изданиях работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о

присуждении ученых степеней» от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями от 21.04.2016 года № 335), утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – *Андреева Евгения Александровна* – заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

Официальный оппонент:

Руководитель научного отделения
иммунологии, микробиологии,
патоморфологии и цитодиагностики
Федерального государственного
бюджетного учреждения

«Уральский научно-исследовательский
институт охраны материнства и
младенчества» Министерства

здравоохранения

Российской Федерации

Адрес организации: Федеральное
государственное бюджетное учреждение
«Уральский научно-исследовательский
институт охраны материнства и
младенчества» Министерства

здравоохранения Российской Федерации
620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д.1,
тел. +7 (343) 371-87-68, <http://niiomm.ru/>.

Доктор медицинских наук по
специальностям:

14.00.36 – Аллергология и иммунология

14.00.09 – Педиатрия

Чистякова Гузель Нуховна

Подпись д.м.н., проф. Г.Н. Чистяковой

заверяю:

начальник отдела кадров



[Signature] О.Н. Тараканова