

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри акушерства і гінекології Запорізького державного медичного університету,

Крутя Юрія Яковича

на дисертаційну роботу Ващенко Вікторії Леонідівни «Клініко-імуннологічні механізми формування макрофагального дисбалансу при прееклампсії та оптимізація підходів до вторинної її профілактики» за фахом 222 – Медицина, яка подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Актуальність обраної теми дисертації, зв'язок з науковими програмами, планами, темами. Прееклампсія (ПЕ) є одним з провідних ускладнень вагітності і основною причиною материнської захворюваності та смертності. Поширеність ПЕ у структурі акушерської патології в світі сягає 15-16%. Перинатальна смертність при тяжких формах прееклампсії перевищує 50%.

Етіопатогенез ПЕ вивчається десятки років, однак до цього часу немає ефективних методів профілактики та лікування цієї складної патології. Натепер провідною теорією патогенезу ПЕ вважається теорія порушення другої хвилі інвазії трофобласту у спіральні артерії матки, що призводить до розвитку ішемії в плаценті. В свою чергу, ішемічні ураження ініціюють активацію системної запальної реакції та ендотеліальну дисфункцію. Саме вони є пусковим механізмом, що призводить до гіповолемії, порушень реологічних властивостей крові та гіперкоагуляції, які сприяють розвитку прееклампсії та поліорганної недостатності. Низькоінтенсивне запалення при ПЕ проявляє себе також в зміні кількості моноцитів та їх підгруп, а також зміні кількості плацентарних макрофагів та їх поляризації. Дисбаланс децидуальних макрофагів може сприяти

підвищенню продукцію різноманітних медіаторів, в тому числі таких, що спонукають до формування ендотеліальної дисфункції та ПЕ.

Роль макрофагальної поляризації в контексті розвитку прееклампсії на сьогоднішній день достатньо не вивчена, тож детальний аналіз цього питання, виявлення факторів, які впливають на диференціацію децидуальних макрофагів у жінок з прееклампсією, може мати велике значення для прогнозування розвитку цієї патології та її профілактування.

Тому дисертаційна робота Ващенко Вікторії Леонідівни, яка присвячена вивченню клініко-імунологічних механізмів формування макрофагального дисбалансу при прееклампсії та оптимізації підходів до вторинної її профілактики, є актуальною.

Дисертація виконана згідно з планом наукових досліджень кафедри акушерства і гінекології № 2 Полтавського державного медичного університету і є фрагментом науково-дослідної теми «Роль хронічного інфікування матки та нижніх відділів статевих шляхів у формуванні акушерської та гінекологічної патології» (номер держреєстрації 0117U005276, термін виконання – 2017-2022 роки).

Особистий внесок автора в отриманні наукових результатів, представлених у роботі. Автором самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз джерел літератури з даної теми, обґрунтовано актуальність напрямку досліджень клініко-імунологічних механізмів формування макрофагального дисбалансу при прееклампсії та оптимізації підходів до вторинної її профілактики. Авторка особисто здійснила відбір вагітних для дослідження, проводила забір біоптатів плаценти, клінічне обстеження вагітних та брала участь у проведенні інструментальних методів обстеження. Дисертанткою особисто виконано статистичну обробку і науковий аналіз та узагальнення отриманих результатів, сформульовано основні

положення, висновки і практичні рекомендації, проведено впровадження результатів досліджень у клінічну практику. Авторкою написано всі розділи дисертаційної роботи та підготовані до друку наукові праці. У наукових розробках, які відображені в публікаціях сумісно зі співавторами, участь пошуковця є провідною. Авторка не запозичувала ідеї та розробки співавторів публікацій.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій. Завдання проведеного дослідження цілком відповідають меті роботи. Для реалізації мети і завдань дослідження були вивчені клінічний перебіг вагітності та пологів у жінок із ПЕ та фактори ризику розвитку даної акушерської патології. Для вирішення поставлених задач авторкою були використані методи дослідження, що дозволили отримати дані про відсутність інфікування статевих шляхів у обстежених вагітних жінок, інтенсивність кровоплину в маткових, спіральних артеріях, судинах пуповини та середній мозковій артерії плода, біофізичний профіль плода, дані про стан плода, отримані за допомогою КТГ. Визначались показники загального та місцевого імунного статусу організму вагітних, включаючи дослідження рівня про- та протизапальних цитокінів у цервікальному слизу. Досліджувались показники обміну оксиду азоту та аргінази в цервікальному слизу залежно від терміну та перебігу вагітності. Імуногістохімічне дослідження субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 проводилось у патоморфологічній лабораторії «CSD Health Care» (м.Київ), яка є членом європейської системи контролю якості NordiQC. Оцінювалась ефективність запропонованого методу вторинної профілактики розвитку прееклампсії.

На основі досліджень дисертантці вдалось зробити обґрунтовані висновки, які логічно випливають із змісту роботи та відображають основні положення дисертації.

Наукові положення, висновки та рекомендації дисертаційної роботи Ващенко В.Л. базуються на достатній кількості клінічних спостережень – 121 вагітна жінка. Результати досліджень максимально проаналізовані із застосуванням різних методів медичної статистики (параметричні методи, кореляційний аналіз). Об'єм виконаних досліджень з використанням сучасних, адекватних поставленим задачам, клінічних, інструментальних, біохімічних, імуноферментних, морфологічних та гістохімічних методів дослідження засвідчують обґрунтованість наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Ступінь новизни результатів дисертаційного дослідження. Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що автором уточнено наукові дані щодо анамнестичних факторів високого ризику виникнення прееклампсії (методом розрахунку відношення шансів), та зниження кровоплину в спіральних артеріях матки, які розташовані в області плацентарної площадки, які можна оцінити вже в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, задовго до клінічної маніфестації даного захворювання.

Встановлено, що у вагітних з ПЕ виникли явища імуносупресії і клітинно-гуморального дисбалансу: зниження вмісту Т-хелперів при підвищенні концентрації Т-супресорів/кілерів, тенденція до падіння кількості В-клітин і пов'язане з цим зниження рівня IgG ($r=0,58$ $P<0,01$). Значно збільшується кількість циркулюючих імунних комплексів (при рівні ЦІК вище 100 од/мл частота виникнення прееклампсії становила 67%).

Доведено значне зростання рівнів прозапальних цитокінів INF- γ (в 1,5 рази) та TNF- α (в 2,6 рази) при достовірному зниженні концентрації протизапального цитокіну IL-10 (в 1,9 рази) порівняно із здоровими вагітними; ці зміни у вагітних в II та ранній фазі III триместру вагітності сприяють порушенню правильного співвідношення субпопуляцій децидуальних

макрофагів M1 та M2 в плаценті на користь субпопуляції M1 (тоді як у здорових вагітних в цьому терміні повинні переважати децидуальні макрофаги субпопуляції M2). Знайдені достовірні кореляції:

- між підвищеним вмістом макрофагів субпопуляції M1 в плаценті жінок з преєклампсією та зростанням концентрації в цервікальному слизу прозапального цитокіну INF- γ ($r=0,65$; $P<0,05$) та індукцибельної NO-синтази ($r=0,59$; $P<0,05$);
- між падінням вмісту макрофагів фенотипу M2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну IL-10 ($r=0,49$; $P<0,05$) та падінням активності аргінази в цервікальному слизі ($r=0,60$; $P<0,02$).

Авторкою обґрунтований метод вторинної профілактики преєклампсії у вагітних групи високого ризику по її виникненню (починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності) шляхом медикаментозного пригнічення диференціації фенотипу M1 та стимуляції диференціації фенотипу M2.

Висновок про повноту опублікування основних положень дисертації.

Матеріали дисертації повністю висвітлені в опублікованих працях. За темою дисертації надруковано 8 наукових праць, серед яких 4 статті в наукових фахових виданнях України, 1 стаття в українському журналі, включеному до міжнародної наукометричної бази Web of Science та 1 стаття в закордонному журналі, включеному до міжнародної наукометричної бази Scopus. Отримано деклараційний патент України на корисну модель, опубліковане 1 нововведення. Основні положення та результати дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на міжнародних та всеукраїнських науково-практичних форумах.

Наукове та практичне значення отриманих результатів та рекомендації щодо їх використання. Обґрунтована доцільність використання (в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності) маркерів високої вірогідності виникнення у таких

жінок в подальшому прееклампсії:

- анамнестичні фактори високого ризику виникнення прееклампсії (шляхом розрахунку відношення шансів);
- виявлення при доплерометричному дослідженні в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності збільшення індексу резистентності в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки до величини 0,7 і більше (в подальшому у 71% таких жінок виникає прееклампсія);
- зростання рівня циркулюючих імунних комплексів в крові в цьому ж терміні вагітності більше 100 од/мл (вірогідність виникнення прееклампсії становить 67%);
- зниження рівнів Т-хелперів(CD4+).

Патогенетично обґрунтовано застосування вторинної профілактики прееклампсії у жінок групи високого ризику по її виникненню шляхом відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів (пригнічення вироблення фенотипу M1 та стимуляція диференціації фенотипу M2) впливом на вироблення факторів їх індукції (пригнічення продукції індукцибельної NO-синтази та прозапальних цитокінів для субпопуляції M1 та активації функціонування аргінази і вироблення протизапального цитокіну IL-10 – для субпопуляції M2).

Для цього, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, були застосовані: метформін, який пригнічує транслокацію нуклеарного фактора транскрипції (NF-kB), що призводить до зменшення вироблення прозапальних цитокінів та зниження диференціації M1-макрофагів; активна форма вітаміну D₃ (1,25[ОН]2D), який не тільки сприяє диференціації макрофагів M2, але також пригнічує диференціювання макрофагів M1; корвітин, діючою речовиною якого є кверцетин, що гальмує продукцію прозапальних цитокінів та змінює баланс ендотеліальних вазоактивних речовин на користь вазодилататорів, за

рахунок чого зростає регіональний кровоплин, в тому числі в спіральних артеріях матки.

Застосування запропонованого дисертанткою методу вторинної профілактики виникнення преєклампсії у вагітних групи високого ризику по даному захворюванню призвело до значних позитивних змін у роботі системи імунітету, обміну оксиду азоту в цервікальному слизу та нормалізації диференціації децидуальних макрофагів в плаценті на користь субпопуляції M2, з відповідним покращенням клінічних наслідків: попередження порушень кровоплину в матково-плацентарно-плодовій системі, зниження частоти маніфестації преєклампсії в 1,4 рази, зменшення частоти передчасних розроджень в 2,2 рази, зниження перинатальної смертності в 1,8 рази, в 4 рази рідше зустрічалась асфіксія новонароджених, зменшення народження дітей з екстремально низькою масою тіла в 2,1 рази.

Основні результати дисертаційного дослідження впроваджено в клінічну практику жіночих консультацій м. Полтава №2, №3 та №4, Перинатального центру КП «Полтавська обласна клінічна лікарня ім.М.В.Скліфосовського ПОР», КНП «Міський клінічний пологовий будинок ПМР» м. Полтава, КНМП «Кременчуцький перинатальний центр II рівня», Перинатального центру (м.Запоріжжя). Положення, викладені в матеріалах дисертації, використані в навчальному процесі кафедр акушерства та гінекології №2 Полтавського державного медичного університету (м.Полтава) та кафедри акушерства і гінекології Запорізького державного медичного університету (м.Запоріжжя).

Оцінка структури дисертації, мови та стилю викладення.

Дисертаційна робота викладена українською мовою на 221 сторінці друкованого тексту, традиційно структурована і складається із вступу, огляду літератури, характеристики об'єкту та методів дослідження, 3-х розділів власних досліджень, аналізу та обговорення отриманих результатів, висновків,

практичних рекомендацій та списку літературних джерел. Робота проілюстрована таблицями та рисунками.

Вступ присвячено обґрунтуванню актуальності роботи, визначенню мети та завдань дослідження, викладенню наукової новизни роботи, практичної значимості та результатів впровадження. Відображені апробація результатів дисертації, публікації, обсяг і структура роботи.

Перший розділ дисертації присвячений аналізу сучасних даних наукової літератури щодо особливостей діяльності імунної системи при фізіологічній вагітності та при її ускладненні преєклампсією. Дисертанткою ретельно проаналізовано стан даної проблеми, яка залишається актуальною в сучасному акушерстві. Охарактеризовано обґрунтовані теорії етіопатогенезу преєклампсії та механізми її розвитку. Розглянуті особливості будови та функції децидуальних макрофагів, а також співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів у вагітних з преєклампсією. Проведений авторкою огляд літератури переконує в актуальності та доцільності обраного напрямку дослідження.

Другий розділ дисертації - проведено опис дизайну, матеріалу та методів дослідження, запропонованих дисертантом методів вторинної профілактики виникнення ПЕ. Використані автором методи досліджень є адекватними та інформативними для вирішення поставленої мети і завдань. Обстежені жінки рандомізовані за віком, конституціональними типами, терміном вагітності та іншими показниками. Наводяться критерії включення вагітних в дослідження, детально описані етапи досліджень та застосовані в роботі методи статистичного аналізу.

Третій розділ присвячений особливостям клінічного перебігу вагітності та її завершення у обстежених жінок. Авторкою ретельно наведені матеріали, які характеризують перебіг вагітності і пологів у обстежених жінок, структуру екстрагенітальної патології, частоту акушерських ускладнень та стан

новонароджених у жінок досліджуваних груп. При включенні в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності всім жінкам був виконаний біохімічний аналіз крові для визначення у ній показників, які є маркерами діяльності життєво важливих органів (печінки, підшлункової залози та нирок), а також були визначені показники клітинно-гуморального імунітету.

Четвертий розділ дисертаційної роботи присвячений вивченню механізмів змін діяльності імунної системи і поляризації децидуальних макрофагів у здорових вагітних, у жінок з преєклампсією та їх вплив на маніфестацію і ступінь тяжкості даного захворювання. Авторкою проведена оцінка змін показників фетоплацентарного кровотоку, клітинно-гуморального імунітету у вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії. В розділі проведено визначення рівнів про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у таких вагітних. Дисертанткою також проаналізовані особливості обміну оксиду азоту та активності аргінази у обстежених вагітних. Авторкою проведена оцінка співвідношення макрофагальних субпопуляцій M1 та M2 в плаценті породіль, які перенесли преєклампсію під час вагітності.

Продемонстровані автором явища імуносупресії з дисбалансом про- та протизапальних цитокінів у вагітних з преєклампсією сприяють нездатності трофобластів виконати повноцінну інвазію в спіральні артерії матки з подальшим розвитком ендотеліальної дисфункції.

П'ятий розділ дисертації присвячений патогенетичному обґрунтуванню вторинної профілактики преєклампсії у вагітних групи високого ризику по її виникненню. Проведена оцінка впливу запропонованих профілактичних заходів на показники фетоплацентарного кровотоку, частоту акушерських та перинатальних ускладнень у вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії. Дисертанткою проаналізовані показники клітинно-гуморального імунітету в крові, рівень про- і протизапальних цитокінів в цервікальному

слизу, а також ефективність корекції порушень обміну оксиду азоту та активності аргінази в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії в порівнянні традиційного та запропонованого профілактичного лікування. Авторкою також проаналізовано вплив запропонованого комплексного профілактичного лікування на процеси врегулювання механізмів поляризації децидуальних макрофагів у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії.

Застосування запропонованого автором методу вторинної профілактики виникнення прееклампсії у вагітних групи високого ризику по цьому захворюванню дозволило попередити порушення кровоплину в матково-плацентарно-плодовій системі, знизити в 1,4 рази частоту клінічної маніфестації прееклампсії (а частота тяжкої прееклампсії зменшилась в 2,6 рази), значно знизити частоту ускладнень вагітності і пологів, асоційованих з прееклампсією.

Аналіз та обговорення результатів підводить підсумок та узагальнює результати проведених досліджень В даному розділі автором систематизовані та оцінені дані щодо отриманих клінічних, лабораторних, ультразвукових, імуноферментних показників, особливостей перебігу вагітності та пологів у жінок досліджуваних груп.

Висновки та практичні рекомендації зроблені на підставі отриманих у дослідженні результатів, обґрунтовані, містять фактичний матеріал, відповідають завданням дослідження.

Дисертацію слід вважати завершеною науковою роботою. Оформлення дисертації, стиль і грамотність викладу матеріалу відповідають сучасним вимогам. Принципових зауважень до роботи немає.

У порядку дискусії прошу надати відповідь на наступні запитання:

1. Чому з метою профілактики розвитку прееклампсії Ви обрали саме таку медикаментозну комбінацію: метформін, вітамін Д3 і корвітин?

2. На Вашу думку, які механізми саногенезу застосованої Вами вторинної профілактики преєклампсії дозволили суттєво покращити перебіг і результати вагітності у включених в дослідження жінок?

Відповідність дисертації вимогам, що пред'являються до наукового ступеня доктора філософії з фаху 222 Медицина.

Дисертація Ващенко Вікторії Леонідівни «Клініко-імунологічні механізми формування макрофагального дисбалансу при преєклампсії та оптимізація підходів до вторинної її профілактики» являється самостійним завершеним науковим дослідженням. За актуальністю, новизною, практичною та соціальною значимістю робота відповідає вимогам МОН України до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії, а її автор заслуговує на присудження даного наукового ступеня за спеціальністю 222 – Медицина.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри акушерства і гінекології

Запорізького державного медичного університету,

доктор медичних наук, професор

