

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Куценко Ирины Игоревны на диссертационную работу Красильниковой Ангелины Ксенофонтовны на тему: «Персонализированный подход к диагностике и тактике лечения женщин с бесплодием при «малых» формах эндометриоза», представленной в диссертационный совет Д 208.028.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности: 14.01.01 - «Акушерство и гинекология».

Актуальность диссертационного исследования Красильниковой Ангелины Ксенофонтовны определяется тем, что эндометриоз занимает третье место в структуре гинекологической патологии и распространенность его неуклонно растет, особенно среди женщин активного репродуктивного возраста. Ведущими проявлениями заболевания являются хроническая тазовая боль и бесплодие. При этом эндометриоз-ассоциированное бесплодие, связанное с «малыми» формами выявляется у 60% пациенток в процессе диагностического поиска причин infertility и представляет значительные трудности при ведении данного контингента. (Л.В. Адамян и др. М 2017, Унанян А.Л., 2017). Причины возникновения эндометриоза остаются предметом научной дискуссии [Л. В. Адамян, 2017, Дамиров, М.М., 2013]. Одним из ключевых звеньев патогенеза эндометриоза является неэффективность различных компонентов иммунной системы, как на системном, так и на локальном уровне, проявляющаяся в снижении цитотоксической активности НК-клеток, нарушении процессов пролиферации и апоптоза, неоангиогенеза и росте соединительной ткани (Д.З. Цицкарава, 2017). Развитию болезни могут способствовать условия окружающей среды, психологические свойства личности, чрезмерно активная половая жизнь и частая смена половых партнеров, генетическая предрасположенность, изменения в эктопическом эндометрии, которые могут быть вызваны инфекционным фактором [Баскаков, В.П., 2010]. Обзор

современных взглядов на причины возникновения бесплодия при эндометриозе указывает на многофакторность данной проблемы (нарушение функции маточных труб и эндометрия, сбой гормональных взаимодействий, развитие аутоиммунной реакций, патология стволовых клеток и др.). Однако, до сих пор механизмы, приводящие к нарушению репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом, особенно с «малыми» формами, до конца не установлены, как нет и единого мнения о тактике ведения таких пациенток. Для более полного понимания роли иммунной системы в патогенезе эндометриоза целесообразно проведение оценки выраженности иммунных нарушений при эндометриозе различной степени тяжести, что позволит выделить наиболее значимые механизмы, участвующие в регуляции эктопического роста эндометрия, а также выявить конкретные иммунные изменения при бесплодии, ассоциированном с эндометриозом. Все это открывает перспективу определения «точки приложения» действия иммуномодулирующих препаратов, направленного на коррекцию иммунных нарушений и, как следствие, улучшение репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом «малых» форм. Таким образом, уточнение иммунных механизмов, определяющих нарушение репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом I–II стадий и разработка на их основе персонафицированного подхода к медикаментозной коррекции выявленных нарушений является, несомненно актуальным.

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

Работа выполнена на большом клиническом материале. В исследование включено 453 женщины, в том числе 264 пациентки с I–II стадиями эндометриоза и бесплодием. Группу сравнения составили 86 пациенток с III–IV стадиями эндометриоза и бесплодием. Контрольной группой явились 103 здоровые фертильные женщины с реализованной репродуктивной функцией, у которых исключен эндометриоз. Автором четко определены критерии

включения и исключения, приведена развернутая характеристика пациенток, демонстрирующая гомогенность групп и позволяющая проводить достоверные сравнительные исследования.

Примененные в работе **методы исследований** современны и адекватны поставленным задачам. Научное исследование выполнено на высоком методическом уровне включает помимо общеклинических исследований эндоскопические (лечебно-диагностическая лапароскопия, гистероскопия с отдельным диагностическим выскабливанием матки), электрофизиологические (ЭКГ), ультразвуковые (УЗИ), магнитно-резонансную томографию, иммунологические и патоморфологические исследования. Оценивали сывороточное содержание ФСГ, ЛГ, эстрадиола, ингибина В и АМГ. В сыворотке крови определяли наличие антител (IgM, IgA, IgG) к возбудителям бактериально-вирусной инфекции. Иммунологические методы исследования включали: выделение иммунокомпетентных клеток из периферической крови и перитонеальной жидкости; фенотипирование популяций мононуклеарных клеток (МНК) и нейтрофилов из периферической крови и перитонеальной жидкости методом проточной цитометрии для выделения РНК или культивирования с иммуномодуляторами для изучения их влияния *in vitro*. Определяли мембранную экспрессию рецепторов (мРНК IL-4, IL-5, IL-6, NOD2, RAGE и β 2-микроглобулина и проводили полуколичественное определение уровня экспрессии мРНК IL-6 и внутриклеточный синтез цитокинов (IL-4, IL-6, RAGE, sCD30, sTNFR2) иммунокомпетентными клетками крови и перитонеальной жидкости.

Полученные результаты обработаны с использованием современных методов вариационной статистики и корреляционного анализа. Для оценки диагностической значимости исследуемых показателей применялся ROC анализ. Количественная интерпретация ROC анализа оценивалась по показателю AUC (area under ROC-curve) – площадью, ограниченной ROC-кривой и осью доли ложных положительных классификаций, а так же

уровню чувствительности и специфичности. Статистический анализ осуществлялся в пакете прикладных лицензионных программ «Statistica 6.0», «Microsoft Office 2007», «GenStat», «MedCalc» и «OpenEpi».

Таким образом, результаты вышеизложенных исследований достоверны, положения, выносимые автором на защиту, выводы практические рекомендации диссертации обоснованы.

Новизна научных положений, выводов и рекомендаций.

На основании многоуровневых исследований Красильниковой А.Л. установлены особенности регуляции реакций гуморального и врожденного звеньев иммунитета, связанные с развитием эндометриоза, а также нарушением репродуктивной функции при «малых» формах эндометриоза. В исследовании впервые выявлено, что при эндометриозе и ассоциированном с ним бесплодием имеются 3 типа изменений иммунного ответа: не зависящие от степени тяжести эндометриоза, пропорциональные степени его тяжести и отмечающиеся только у пациенток с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием. При этом доказано, что к иммунным факторам, характерным для эндометриоза любой тяжести и ассоциированного с ним бесплодия относятся усиленная активность В-1 и Т-лимфоцитов, угнетение функции «клеток-мусорщиков» при гиперпродукции провоспалительных цитокинов IL-6, TNF α фагоцитами крови и перитонеальной жидкости. К иммунным механизмам, приводящим к формированию распространенных форм эндометриоза у пациенток с бесплодием, относятся повышенный синтез и продукция цитокинов, активирующих реакции Th2 типа (IL-4, IL-6, sCD30) на системном и локальном уровне, а также усиление экспрессии PRR рецепторов (TLR, RAGE) макрофагами перитонеальной жидкости. Исследованиями установлено, что «малые» формы эндометриоза в сочетании с бесплодием сопровождаются повышением системной продукции IL-5 лимфоцитами, усилением экспрессии TLR2 моноцитами и снижением продукции IL-1 моноцитами.

Выявлено, что Пентоксифиллин *in vitro* угнетает синтез и продукцию цитокинов Th2 типа периферическими лимфоцитами здоровых женщин. При воздействии на лимфоциты пациенток с эндометриозом и бесплодием – он уменьшает внутриклеточную продукцию IL-4 и IL-6 лимфоцитами крови и перитонеальной жидкости и продукцию IL-5- периферическими лимфоцитами. Глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) *in vitro* стимулирует мембранную экспрессию TLR2, CD36, CD204, CD11b CD120a молекул моноцитами крови и макрофагами перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и бесплодием, усиливая внутриклеточную экспрессию фагоцитами крови и перитонеальной жидкости TNF α и IL-1 β по дозозависимому типу.

Впервые показано, что эффективность хирургического лечения бесплодия у пациенток с «малыми» формами эндометриоза зависит от исходного иммунологического фона. Определяемые до начала лечения иммунологические показатели пациенток (уровень периферических CD20+CD5+ лимфоцитов, CD86+ нейтрофилов и IL-1 β + моноцитов) позволяют прогнозировать вероятность наступления спонтанной беременности у пациенток с «малыми» формами эндометриоза и определяет группы пациентов нуждающихся дальнейшем углубленном обследовании с целью определения вида направленной персонифицированной иммунокоррекции.

Разработан алгоритм персонифицированного назначения комбинированного лечения с включением иммуномодуляторов Пентоксифиллин или ГМДП в раннем послеоперационном периоде женщинам с эндометриозом I-II стадий и бесплодием.

Доказано, что персонифицированное применение в раннем послеоперационном периоде иммуномодуляторов Пентоксифиллин или ГМДП увеличивает частоту наступления беременности у женщин с «малыми» формами эндометриоза и бесплодием за счет нормализации состояния иммунной системы.

Значимость полученных результатов для науки и практики.

Результаты диссертационного исследования Красильниковой А.К., следует оценить, как серьезный вклад в науку и практику.

Полученные соискателем данные позволили существенно расширить и углубить системные представления о закономерностях и механизмах формирования эндометриоза и нарушений репродуктивной функции при его «малых» формах, обусловленных особенностями регуляции реакций гуморального и врожденного звеньев иммунитета.

На основании полученных результатов практическому здравоохранению предложен алгоритм обследования и определения тактики ведения пациенток с эндометриозом I-II стадии и бесплодием, приводящий к увеличению наступления беременности. Разработан протокол «Прогнозирование восстановления репродуктивной функции у пациенток с бесплодием и эндометриозом 1-2 стадии после проведения лечебно-диагностической лапароскопии» для клинической апробации.

Практические рекомендации, изложенные в диссертации, являются доступными, обоснованными и перспективными.

Разработанные способы прогнозирования эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с эндометриозом I-II стадии прошли предрегистрационное испытание в клинике ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н.Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Получены патенты РФ: патент № 2557923 от 30.06.2015 г. «Способ прогнозирования спонтанного наступления беременности у женщин с I и II стадией наружного генитального эндометриоза»; патент № 2613313 от 15.03.2017г. «Способ прогнозирования наступления беременности у женщин с I и II стадиями эндометриоза после хирургического лечения»; заявка на патент №2017130673 от 29.08.2017 «Способ диагностики эндометриоза у женщин с бесплодием».

Материалы полученных результатов исследования в полном объеме представлены на научно-практических мероприятиях различного уровня, апробированы и используются в учебном процессе кафедры акушерства и гинекологии ФГБУ «Ив НИИ Мид им. В.Н.Городкова» Минздрава России, а также внедрены в работу региональных лечебно-профилактических профильных стационарных и амбулаторных учреждений. Количество и полнота публикаций соответствуют предъявляемым требованиям и достаточны для докторских диссертаций. По теме диссертации опубликованы 57 печатные работы, из них 16 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации результатов научных исследований.

Предложенный диссертантом способ прогнозирования эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с эндометриозом I-II стадии открывает реальные перспективы для разработки новых, научно-обоснованных программ мониторинга заболевания с целью своевременного формирования групп риска по неблагоприятному течению эндометриоза для определения адекватной тактики ведения пациентов, а также является перспективным для дальнейших исследований в области акушерства и гинекологии. Результаты исследований Красильниковой А.К. могут быть использованы в медицинских и биологических вузах при преподавании курсов иммунологии и акушерства и гинекологии.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом и качество оформления.

Диссертационная работа построена по традиционной схеме, состоит из введения, обзора литературы, включающего 60 отечественных и 444 зарубежных источника, девяти глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций, приложений, списка литературы. Исследование наглядно иллюстрировано (145 таблиц и 24 рисунков), изложено на 371 странице машинописного текста.

Обзор литературы написан с привлечением фундаментальных и периодических отечественных и зарубежных литературных источников, согласно которым автором проведен комплексный анализ по изучаемой проблематике, что позволяет судить о всестороннем знании диссертантом исследуемой темы.

Для реализации цели научной работы и выполнения поставленных задач, получения аргументированных выводов и практических рекомендаций автором были проведены и последовательно и объективно оценены результаты клинико-anamнестических, инструментальных, морфологических, лабораторных, в том числе иммунологических методов исследования полученных от исследуемого контингента.

Главы собственных исследований (3, 4 и 5 главы) посвящены клинической характеристике обследованных женщин, характеристике реакций гуморального и клеточного звена иммунитета на системном и местном уровне у женщин с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом I-II стадии. Подробно изучены особенности синтеза и мембранной экспрессии паттерн-распознающих рецепторов, адгезионных и костимуляторных молекул фагоцитами крови и перитонеальной жидкости и особенности внутриклеточной экспрессии провоспалительных цитокинов и их рецепции.

В главе 6 оценено влияние традиционного ведения послеоперационного периода (обезболивающая и антибактериальная терапия) на показатели гуморального и врожденного иммунитета и зависимость исхода лечения бесплодия от исходных показателей гуморального и врожденного иммунитета.

В 7 главе исследования подробно описано влияние терапии с использованием пентоксифиллина на репродуктивную функцию и состояние гуморального звена иммунитета пациенток с бесплодием и эндометриозом I-II стадии, в том числе влияние препарата пентоксифиллин *in vitro* на синтез и продукцию цитокинов-Th2 и *in vivo* на активность иммунных реакций Th2

типа. Оценена зависимость исхода лечения бесплодия у пациенток, получавших пентоксифиллин в послеоперационном периоде от активности гуморальных иммунных реакций.

Глава 8 посвящена влиянию терапии с использованием глюкозаминилмурамидпептида на репродуктивную функцию и активность фагоцитарного звена иммунитета. Указана взаимосвязь эффективности восстановления репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом 1-2 стадии, получавших ГМДП в послеоперационном периоде с особенностями их клинической характеристики. Исследовано влияние ГМДП *in vitro* на функциональное состояние фагоцитов крови и перитонеальной жидкости и *in vivo* на активность фагоцитов крови. Показана зависимость исхода лечения бесплодия у пациенток с эндометриозом I-II стадии, получавших ГМДП в послеоперационном периоде, от активности фагоцитарных клеток крови.

На основании полученных данных с помощью ROC-анализа показателей разработан алгоритм проведения иммунологического обследования и ведения послеоперационного периода у пациенток с бесплодием и эндометриозом 1-2 стадии, а также способ прогнозирования успеха наступления беременности по иммунологическим показателям.

В отдельной главе проведено обсуждение полученных результатов, которые соотнесены с литературными данными по рассматриваемому вопросу.

Содержание диссертационной работы изложено грамотным литературным языком, является простым для понимания и интерпретации. Выводы логически обоснованы, соответствуют поставленным задачам.

По своей актуальности, объему, методическому уровню исследования, научной новизне, практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертация **Красильниковой Ангелины Ксенофоновны** соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к докторским диссертациям и заслуживает положительной оценки.

Личный вклад соискателя в разработку проблемы заключается в том, что все исследования выполнены лично автором 100%. При этом соискатель принимал непосредственное участие в получении исходных данных, их обработке и интерпретации, а также в подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Значимость проведенных исследований для науки и практики несомненна. Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертационной работы нет.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Несмотря на отмеченные положительные стороны работы, к автору работы имеются следующие **вопросы**:

1. Как вы относитесь к адъювантной гормонотерапии, в частности препаратом первой линии «диеногест», обладающим определенными иммуностимулирующими эффектами у пациенток с «малыми формами эндометриоза и бесплодием»?

2. Нужно ли проводить предгравидарную подготовку иммуноориентированными препаратами в случае выявления показаний для ЭКО у пациенток с «малыми» формами эндометриоза?

Заключение

Таким образом, диссертация **Красильниковой Ангилины Ксенофоновны на тему: «Персонализированный подход к диагностике и тактике лечения женщин с бесплодием при «малых» формах эндометриоза»**, представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.01 – «Акушерство и гинекология», выполненная при содействии научных консультантов: доктора медицинских наук, профессора Малышкиной Анны Ивановны и доктора медицинских наук, профессора Сотниковой Натальи Юрьевны, является законченной научно-исследовательской работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, алгоритм обследования и определения тактики ведения раннего послеоперационного

периода у пациенток с бесплодием при I–II стадиях генитального эндометриоза, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в развитии перспективного направления в акушерстве и гинекологии, что отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор **Красильникова Ангелина Ксенофоновна** достойна присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.01 – «Акушерство и гинекология».

Официальный оппонент:

Заведующая кафедрой акушерства, гинекологии и перинатологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, д.м.н., профессор



И.И. Куценко

«15» марта 2018г.

Подпись заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Кубанский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
док. фил. наук, профессор




Т.А. Ковелина

Адрес: 350063,
Российская Федерация, Краснодарский Край,
г.Краснодар, ул.Седина,4
Тел. +7 (861) 222-01-14
Сайт: <http://ksma.ru>
e-mail: luzum69@mail.ru