

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора РАН

**Бицадзе Виктории Омаровны на диссертационную работу
Краевой Елизаветы Евгеньевны на тему: «Дифференцированный
подход к ведению пациенток с тромбофилией в программах
вспомогательных репродуктивных технологий», представленной на
соискание ученой степени кандидата медицинских наук по
специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.**

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Краевой Елизаветы Евгеньевны посвящена актуальной теме- влиянию тромбофилии на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Говоря об акушерской патологии, основное значение имеет тромбофилия вследствие дефектов генов системы гемостаза и тромбофилия приобретенного генеза- антифосфолипидный синдром (АФС). Наличие тромбофилии может приводить к таким гестационным осложнениям, как привычное невынашивание беременности, преэклампсия, внутриутробная задержка роста плода, преждевременные роды. Что касается тромбофилии как возможной причины имплантационных неудач в программах ВРТ, то большинство исследований свидетельствуют о том, что наследственная тромбофилия не играет существенной роли, в то время как АФС может оказывать значимое негативное влияние на имплантацию эмбриона.

Важным разделом диссертации является исследование эффективности препаратов низкомолекулярных гепаринов (НМГ), назначенных с целью повышения частоты наступления беременности (ЧНБ). Предшествующие исследования не дают единого вывода о пользе НМГ для пациенток с имплантационными потерями, и полученные в работе данные вносят свой определенный вклад в этот дискуссионный вопрос.

Обоснованность и достоверность полученных данных

Работа выполнена на достаточном объеме выборки, с использованием современных методов исследований и оборудования, грамотной статистической обработки данных, что подтверждает достоверность полученных результатов.

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из которых 4 напечатаны в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК, в том числе 1 статья опубликована в иностранном журнале Cells с Impact Factor 5,656; также материалы исследования представлены на XIV Международном конгрессе по репродуктивной медицине 21.01.2020 г.

Научная новизна

В результате исследования выявлено, что шансы наступления беременности у пациенток в программах ВРТ снижаются при персистенции повышенного уровня АФА, причем эти АТ представлены преимущественно некритериальными типами: к фосфатидилсерину (ФС), фосфатидилэтаноламину (ФЭ) и аннексину V. Выбор исследованного спектра АФА обоснован результатами предшествующих исследований: так, в исследованиях, посвященных проблеме привычного невынашивания беременности- области, наиболее близкой к ВРТ (например, McIntyre J.A.), показана целесообразность обследования пациенток с рецидивирующими гестационными потерями на АТ именно к ФС и ФЭ, т.к. указанные АТ влияют на развитие трофобласта и процессы раннего эмбриогенеза. А аннексин V- протеин, обладающий мощным антикоагулянтным действием, защищающий фосфолипиды апикальной поверхности трофобласта и сосудистых эндотелиальных клеток наподобие щита и АТ к нему могут повреждать этот барьер, что приводит к “обнажению” фосфолипидов и запуску коагуляционных реакций, что, в свою очередь, может приводить к нарушению процесса имплантации.

Установлено, что повышенный титр АФА коррелирует с повышенным уровнем тканевого фактора (ТФ), ассоциированного с внеклеточными везикулами (ТФ-ВВ), в плазме крови. Как известно, повреждение эндотелия АФА, экспонирование ТФ субэндотелиального слоя и, как следствие, запуск реакций коагуляционного каскада является одним из патогенетических механизмов АФС. Дополнительным источником ТФ являются микрочастицы- внеклеточные везикулы (ВВ), которые вносят свой вклад в патогенез состояния гиперкоагуляции, что описано в данной работе.

Также в работе продемонстрирована возможность повышения эффективности программ ВРТ за счет коррекции нарушений на этапе имплантации с помощью назначения препаратов НМГ. Положительное действие НМГ на процессы имплантации и плацентации опосредуется многими факторами: помимо непосредственного антикоагулянтного и антитромботического действия НМГ оказывают противовоспалительное действие, которое осуществляется за счет ингибирования TNF- α , продуцируемого макрофагами, иммуномодулирующее действие - через систему E-кадгерина и инсулиноподобный фактор роста, антиапоптотическое действие – через влияние на клетки трофобласта через эпителиальный фактор роста (EGF), взаимодействие с матриксными металлопротеиназами и усиление инвазивных свойств бластоцисты, а в случае АФС- прямым связыванием с АФА и подавлением иммунопатологических реакций в области формирования плацентарной площадки.

Практическая значимость

Продемонстрирована целесообразность обследования пациенток перед вступлением в программы ВРТ на наличие АФА, в том числе некритерильных, т.к. их персистенция в повышенных титрах приводит к снижению шансов наступления беременности. Безусловно, в группах пациенток с отягощенным личным или семейным тромботическим

анамнезом, множественными неудачными попытками ЭКО это обследование наиболее актуально и экономически оправдано, т.к. позволит повысить эффективность программ ВРТ за счет снижения частоты имплантационных неудач.

В качестве метода оценки системы гемостаза при проведении программ ВРТ предложен метод тромбодинамики как более диагностически точный для выявления гипо- и гиперкоагуляционного состояния крови. Этот метод обладает высокой чувствительностью для диагностики нарушений плазменного звена гемостаза и контроля при проведении антикоагулянтной терапии.

Также даны рекомендации по особенностям овариальной стимуляции у пациенток с тромбофилией в программах ВРТ. Учитывая установленную в ходе работы положительную корреляционную связь между дозой вводимых гонадотропинов и изменениями параметров тромбодинамики у пациенток с тромбофилией в программах ВРТ, даются рекомендации о назначении возможно минимальных эффективных доз гонадотропинов данной группе пациенток.

Предложено назначение препаратов НМГ с целью повышения ЧНБ в программах ВРТ. В данной работе показаниями для назначения НМГ являлись не только высокий риск тромбоэмболических осложнений, но и предшествующие имплантационные неудачи в программах ВРТ, персистенция АФА.

На основании результатов работы автором составлен алгоритм ведения пациенток с тромбофилией и/или неудачными попытками ВРТ в анамнезе, предлагающий дополнительные методы обследования и лечения указанным группам пациенток.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа оформлена в соответствии с предъявляемыми требованиями; содержит введение, обзор литературы, описание

материалов и методов исследования, представленные результаты собственного исследования и их обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы.

Диссертация написана классическим литературным языком, изложена на 102 страницах машинописного текста, сопровождается 13 рисунками и 16 таблицами. В библиографический указатель включены 116 российских и зарубежных источников.

В первой главе представлен обзор литературы по исследуемой теме. Дано определение и характеристика различных форм тромбофилии, описана патогенетическая роль в развитии акушерских осложнений, приведены данные предшествующих исследований о тромбофилии как самостоятельном факторе имплантационных потерь в программах ВРТ. Большое количество исследований говорит о том, что значимое влияние на имплантацию оказывает АФС или персистенция АФА в повышенных титрах: так, у пациенток с множественными неудачами ВРТ достоверно чаще отмечается повышенный уровень различных типов АФА и клинические проявления АФС в анамнезе. Это неудивительно, учитывая многогранный патогенетический механизм реализации эффектов АФА. Стоит отметить, что выделяют так называемый серонегативный АФС, при котором имеются клинические проявления АФС в виде тромбозов или акушерских осложнений при отсутствии лабораторных маркеров. В такой ситуации рекомендуется расширять диагностический поиск и проводить обследование на наличие других типов АТ. Так, во многих работах показано, что именно так называемые некритериальные АТ могут иметь принципиальное значение при нарушении имплантации эмбриона и развитии акушерских осложнений.

Очень подробно изложена информация о внеклеточных везикулах и, в частности, их роли в процессе гемостаза. Внеклеточные везикулы, или микрочастицы, представляют собой гетерогенную группу внеклеточных структур, принимающих участие во всех процессах жизнедеятельности

организма. Учитывая свойства и функции ВВ, их диагностический и терапевтический потенциал крайне высок: они могут быть использованы в качестве переносчиков терапевтических молекул к клеткам-мишеням, в качестве биомаркеров при диагностике различных заболеваний, в качестве альтернативы клеточной терапии.

Подробно описаны методы исследования, примененные в ходе исследования, сравнены преимущества и недостатки существующих методов исследования системы гемостаза.

Приведены имеющиеся данные о терапевтических возможностях препаратов низкомолекулярных гепаринов (НМГ) в контексте лечения бесплодия. Это очень актуальная и дискуссионная тема, т.к. количество исследований, посвященных данной проблеме, велико, но в силу неоднородности сравниваемых групп, дизайна исследований, различиям в терапевтических схемах результаты исследований остаются противоречивыми. А учитывая большой теоретически обоснованный потенциал этой группы препаратов для коррекции имплантационных нарушений и существующую насущную потребность в повышении эффективности программ ВРТ, вопрос об эффективности адъювантной терапии НМГ крайне важен.

В главе “материалы и методы исследования” представлен дизайн работы, указаны примененные методы лабораторно-инструментальной диагностики. В исследование вошли 97 супружеских пар, которые были разделены на 2 группы в зависимости от факта наступления беременности. Помимо стандартного объема исследований всем пациенткам проведено дополнительное обследование: иммуноферментный анализ уровня АФА (АТ к КЛ, b2-ГП1, ФС, ФЭ, аннексину V), выполненный дважды; тромбодинамика, которая проводилась всем пациенткам трижды в процессе проведения протокола ВРТ: до начала овариальной стимуляции, в день пункции фолликулов и в день переноса эмбриона в полость матки- такая кратность обследования позволила выявить и обосновать

происходящие изменения в системе гемостаза у пациенток с персистенцией АФА; 34 пациенткам было проведено исследование активности ТФ-ВВ в плазме крови.

В главе “полученные результаты” проведен анализ полученных данных. Сравнены клиничко-анамнестические данные пациенток 2 групп: 1 группа- пациентки с наступившей беременностью, 2 группа- пациентки, у которых беременность не наступила. Отмечено, что в группе с отрицательным исходом ВРТ пациентки были старше, чаще страдали НГЭ, имели большее количество программ ВРТ в анамнезе. Все остальные показатели - протоколы овариальной стимуляции, показатели гамето- и эмбриогенеза- были сходными в обеих группах: всем пациенткам был перенесен в полость матки 1 эмбрион отличного или хорошего качества, не отличались также схемы ведения посттрансферного периода.

Что касается распространенности тромбофилии в сравниваемых группах, то выявлены следующие закономерности: частота наследственной тромбофилии высокого риска ТЭО была низкая в обеих группах пациенток; персистенция АФА в средних и высоких титрах оказалась значимо выше (6,7% vs 23,9%) в группе незабеременевших пациенток, АФА были преимущественно представлены АТ к ФС, ФЭ, аннексину V. Беременность наступила у 11,1% женщин с персистенцией АФА в отличие от 35,4 % у женщин без персистенции АФА. У 8 из 18 пациенток с персистенцией АФА имелись клинические маркеры АФС в анамнезе в виде ВТЭО или привычного выкидыша, этой группе пациенток был выставлен диагноз АФС; беременность наступила только у 1 пациентки из этой группы.

Выявлены значимые корреляционные связи между параметрами метода исследования системы гемостаза тромбодинамики и уровнем АФА: так, при проведении овариальной стимуляции у пациенток с персистенцией АФА выявлены повышенная скорость и размер формирования сгустка, а к моменту переноса эмбриона в полость матки наблюдалась отрицательная

корреляционная связь с указанными параметрами; при этом не выявлено статистически значимых различий между гемостазиологическими показателями в обеих группах.

Относительно уровня тканевого фактора, связанного с микрочастицами, были получены следующие закономерности: уровень ТФ-ВВ коррелировал с АФА (чем выше АФА, тем выше ТФ-ВВ), уровнем тромбоцитов (чем выше количество тромбоцитов, тем выше уровень АФА); его концентрация не различалась статистически значимо в обеих группах, но при этом росла в процессе овариальной стимуляции, что можно рассматривать как патогенетический фактор развития состояния гиперкоагуляции.

При оценке эффективности препаратов НМГ, назначенных для повышения частоты наступления беременности в программах ВРТ, получены очень важные результаты: так, из получавших НМГ женщин забеременели 60% пациенток, в то время как из не получавших- 34,3%, а показаниями к назначению НМГ послужили не только риск ТЭО, но и неудачные попытки ВРТ в анамнезе и персистенция повышенного уровня АФА.

В четвертной главе проведен анализ и сравнение полученных данных с аналогичными результатами предшествующих исследований, обзоров и мета-анализов в изучаемой области за последнее время; полученные в диссертационной работе данные не противоречат и согласовываются с мировыми исследованиями и вносят свой вклад в развитие данной области медицинской науки.

Научные положения диссертации обоснованы и достоверны. Статистическая обработка проведена грамотно и корректно. Выводы соответствуют поставленным в исследовании задачам. Цель диссертационной работы достигнута. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации. Принципиальных замечаний к диссертации нет.

Заключение

Диссертационная работа Краевой Елизаветы Евгеньевны на тему: «Дифференцированный подход к ведению пациенток с тромбофилией в программах вспомогательных репродуктивных технологий» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой выполнена научная задача по индивидуализации подхода к ведению пациенток с тромбофилией в программах ВРТ. Научная новизна, достоверность полученных данных, практическая значимость результатов исследования дают основание полагать, что диссертационная работа Краевой Е.Е. соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор РАН,
профессор кафедры акушерства и гинекологии
Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова
ФГАОУ ВО Первый Московский государственный
Медицинский университет им. И.М. Сеченова
(Сеченовский университет)
Министерства здравоохранения
119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2
Телефон: 8(499) 248-01-81

Омаровна

«25» 08 2020 г.

