

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Рудаковой Елены Борисовны на диссертационную работу Асфаровой Гунай Раисовны на тему: «Повышение эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий с помощью аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология.

### Актуальность исследования

В последние годы, несмотря на стремительное развитие вспомогательных репродуктивных технологий, вопросы повышения эффективности лечения бесплодия в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) по-прежнему остаются актуальными. Одним из основных факторов успеха программ ВРТ является имплантация эмбриона. Важными условиями успешной имплантации эмбриона в полости матки являются: качество переносимого эмбриона, оптимальные условия культивирования, рецептивность эндометрия, а также - адекватный диалог между эмбрионом и эндометрием.

Несмотря на все достижения в культивировании эмбрионов, в том числе в разработке различных эмбриональных сред, наблюдается разница между развитием эмбрионов в условиях *in vitro* и естественной среде. Культивирование эмбрионов в стандартной для программ ЭКО среде происходит при полном отсутствии ростовых факторов и цитокинов, которые содержатся в естественных условиях в репродуктивном тракте, что, видимо, может приводить в ряде случаев, к снижению имплантационного потенциала. Поэтому в настоящее время исследователи продолжают уделять большое внимание изучению оптимальных условий культивирования эмбрионов. В этом плане интерес представляет среда с добавлением клеток кумулюса.

Клетки кумулюса – это специализированные клетки, окружающие и питающие ооцит в процессе роста и развития, обеспечивающие во многом полноценность ооцита и его способность к оплодотворению. В ряде проведенных исследований было показано, что добавление аутологичных клеток кумулюса в культуральную среду ускоряет развитие эмбриона, повышает скорость бластуляции и улучшает качество эмбриона. Однако исследования эти единичные и неоднозначно убедительные, а потому требуется более тщательное изучение влияния культуральных сред с добавлением клеток кумулюса на развитие эмбрионов и их имплантационный потенциал в программах ЭКО. Интересен для исследования и механизм этого влияния.

Этим вопросам и посвящена рецензируемая работа, целью которой является изучение возможности повышения эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий с помощью аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса.

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

Цель исследования сформулирована четко и достигается реализацией 5 задач. Обоснованность и достоверность полученных результатов исследования определяется следующими позициями: автором выстроен многоэтапный (3 этапа) дизайн исследования в полном соответствии с поставленными задачами. Сформированные группы наблюдения отвечают признакам репрезентативности – по объему участников исследования ( $n=303$ ), по разработанным критериям включения, невключения и исключения в исследование: по анамнестическому и соматическому статусу, а также по статусу фертильности и результатам репродуктивного цикла. В работе соблюдены требования как по обследованию супружеских пар для программ ВР, так и по ведению репродуктивных циклов ЭКО и переноса

криоконсервированных /размороженных эмбрионов согласно нормативным документам Российской Ассоциации Репродукции Человека (РАРЧ) и МЗ РФ. В работе использован комплекс стандартных лабораторных и аппаратных методов исследования и специальные методы: оценка качества ооцитов и эмбрионов при помощи световой микроскопии (Nikon TE 300, общее увеличение x400); культивирование клеток кумулюса и оценка метаболомного профиля отработанных культуральных сред методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС). Статистический анализ проведен с использованием стандартных методик, обеспечивающих достоверность полученных результатов с использованием критериев Стьюдента и Хи-квадрат. Для анализа метаболома культуральных сред применялся дискриминантный анализ.

Таким образом, выполнение цели и решение задач основаны на достаточном объеме фактического материала, актуальных методах оценки клинических и лабораторных показателей, адекватных методах статистического анализа, что позволяет считать научную новизну, выдвигаемые положения, выводы работы, практические рекомендации достоверными.

### **Научная новизна**

В диссертационной работе впервые в нашей стране проведено изучение влияния технологии аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса в программах ВРТ у пациенток с повторными неудачами имплантации в анамнезе.

Установлены достоверное увеличение частоты наступления беременности при переносе криоконсервированного/размороженного эмбриона у женщин моложе 35 лет при применении технологии аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса, и

неэффективность этой технологии у женщин позднего репродуктивного возраста.

Впервые на основании полученных метаболомных профилей, отработанных культуральных сред клеток кумулюса были получены данные о возрастной ассоциированности профилей метаболитов, возможно влияющей на результативность программ переноса криоконсервированного/размороженного эмбриона .

### **Практическая значимость**

Диссертационная работа Асфаровой Гунай Раисовны, помимо теоретического интереса, имеет важное практическое значение .

Еще раз подтверждена роль мужского фактора при множественных неудачных попытках программ ВРТ, требующая более действенного отношения к изменениям в спермограммах.

На основании полученных результатов, автором был разработан и предложен для клинической практики алгоритм проведения программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с повторными неудачами имплантации в зависимости от возраста женщины и метода культивирования, а именно классическое культивирование и аутологичное сокультивирование с клетками кумулюса как в цикле овариальной стимуляции, так и при переносе криоконсервированного/размороженного эмбриона. Алгоритм персонифицированного подхода может быть рекомендован для применения в центрах и отделениях ЭКО при наличии в них условий.

Основные положения и выводы диссертационной работы внедрены в практическую деятельность отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. Кулакова» Минздрава России.

По теме диссертации опубликовано 4 печатных работы, в том числе 4 – в рекомендованных ВАК научных изданиях .

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа изложена на 121 страницах компьютерного текста, имеет стандартную структуру, состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов), заключения, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы.

Работа написана доступным литературным языком и иллюстрирована 21 таблицей и 6 рисунками.

Во введении автором представлена актуальность выбранной темы, цель и задачи исследования. Научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту, изложены четко и соответствуют содержанию диссертационной работы.

В литературном обзоре автором подробно описаны основные факторы бесплодия у супружеских пар с повторными неудачами имплантации, а также проведен структурированный анализ литературных данных по теме диссертационной работы. В обзоре использованы 204 источника литературы, из них 8 работ отечественных авторов и 196 работ зарубежных авторов.

Во второй главе «Материалы и методы» представлена характеристика супружеских пар, включенных в исследование. Четко обозначен дизайн исследования (3 этапа) представлены критерии включения/невключения и исключения в исследование, подробно изложены и описаны методы обследования пациенток и биологического материала (стандартные и специальные)

В третьей главе «Результаты исследования» представлены собственные данные выполненной научной работы. Проведен анализ клинико-anamnestических данных пациенток, включенных в исследование, а также

параметры эмбриологического этапа в циклах ВРТ у данных супружеских пар. Проведено сравнение клинических и эмбриологических параметров при культивировании в двух системах: культивирование эмбрионов в однокомпонентной среде с бикарбонатным буфером без добавления клеток кумулюса и с применением сокультивирования с аутологичными клетками кумулюса с последующей сравнительной оценкой частоты наступления беременности и родов.

В заключительной части третьей главы был произведен метаболомный анализ отработанных культуральных сред клеток кумулюса и контрольных сред. В результате получены списки потенциальных метаболитов с различным уровнем представленности в группах сравнения, а также были исследованы возможные различия метаболомного профиля у пациенток возрастных групп до 35 лет и старше 35 лет.

В четвертой главе «Обсуждение полученных результатов» автором проводится обобщение и обсуждение результатов диссертационной работы, сравнение с результатами других исследователей. Диссертация содержит 6 выводов, которые четко и последовательно вытекают из основного материала, полностью отражают содержание диссертации и соответствуют поставленным задачам.

Автореферат отражает основные положения диссертации, содержит актуальность и степень разработанности темы исследования, цель, задачи исследования, научную новизну и практическую значимость, методологию исследования, основные положения, выносимые на защиту. По содержанию и оформлению диссертационной работы принципиальных замечаний нет, но следует отметить наличие небольшого количества орфографических и стилистических ошибок, а также несколько ограниченный характер статистической обработки анамнестических и лабораторных данных пациентов, позволяющий автору говорить о предикторах повторных неудач программ ВРТ и роли мужского фактора. Но на общую положительную оценку работы это не влияет.

В порядке дискуссии необходимо получить ответы на следующие вопросы:

1. Считаете ли Вы, что исследование метаболомного профиля сред после сокультивирования было бы более информативным для решения задач вашего исследования, чем только после культивирования клеток кумулюса ?

2. Есть ли необходимость ставить вопрос о более активной позиции андрологов при подготовке к программам ЭКО с учетом того, что даже при невключении в Ваше исследование супружеских пар, где у мужчин выявлены тяжелые формы нарушения сперматогенеза, мужской фактор в совокупности с трубно-перитонеальным является предиктором неудач имплантации?

3. Почему сокультивирование улучшает эффективность только программ переноса криоконсервированных/размороженных эмбрионов?

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Асфаровой Гунай Раисовны на тему: «Повышение эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий с помощью аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса», выполненная под руководством доктора медицинских наук, доцента Смольниковой Вероники Юрьевны, является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена актуальная научная задача, имеющее важное значение для акушерства, гинекологии и репродуктологии – оптимизация программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с повторными неудачами имплантации в программах ЭКО в зависимости от возраста женщины и метода культивирования эмбрионов.

Научная новизна, практическая значимость и достоверность полученных автором результатов исследования позволяет считать, что диссертационная работа Асфаровой Г.Р. соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013

