

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Рудаковой Елены Борисовны на диссертационную работу Драпкиной Юлии Сергеевны на тему «Оптимизация и индивидуализация программ вспомогательных репродуктивных технологий с использованием профиля экспрессии малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбриона», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 — акушерство и гинекология

Актуальность исследования.

Диссертационная работа Драпкиной Юлии Сергеевны посвящена актуальной проблеме – поиску потенциальных неинвазивных биомаркеров качества эмбриона и его имплантационного потенциала, а также прогнозированию наступления беременности в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Несмотря на большие достижения в лечении бесплодия методом ВРТ, эффективность одной попытки программы ЭКО в среднем не превышает 40%, а частота родов живым плодом составляет 33,3 %. Успешное наступление беременности в программах ВРТ зависит от качества и имплантационного потенциала эмбриона, переносимого в полость матки, рецептивности и восприимчивости эндометрия, а также сбалансированного взаимодействия эмбриона и эндометрия. Научные исследования последних лет сделали серьезный прорыв в области изучения процессов имплантации эмбриона на молекулярном уровне, а также поиску дополнительных способов оценки качества эмбриона и его имплантационного потенциала. К основным требованиям, предъявляемым к потенциальным предикторам эффективности программ ВРТ, относят возможность оценки качества эмбриона без инвазивных вмешательств, четкие и воспроизводимые количественные характеристики, а также применимость в рутинной клинической практике. В настоящее время анализ мнкРНК, идентифицированных в культуральной среде, служит

перспективным способом не только оценки качества и имплантационной способности эмбриона, но и также прогнозирования результатов программ ВРТ за счет доказанного ранее многофункционального действия данных молекул на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях регуляции экспрессии генов.

Исходя из вышесказанного, актуальность темы исследования представляет большой научный и практический интерес, так как изучение новых неинвазивных маркеров качества эмбриона и его имплантационного потенциала открывает возможности к повышению эффективности программ ВРТ, а также оптимизации финансово-экономических и временных затрат.

С этой точки зрения данная диссертационная работа своевременна, актуальна, а цель исследования, поставленная автором, четко сформулирована и заключается в прогнозировании эффективности программ ВРТ на основании профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде эмбриона и выбору эмбриона с максимальным имплантационным потенциалом. Из цели логично вытекают 6 задач, подчиненных цели исследования.

Научная новизна.

По результатам данного исследования автором была показана роль мнкРНК, определяемых в культуральной среде эмбриона, в процессах имплантации, определении качества эмбриона и его потенциала к бластуляции. Установлено статистически значимое повышение уровня экспрессии let-7b-5p, let-7i-5p, piR020401 у 8-клеточного эмбриона, способного развиться до стадии бластоцисты отличного качества. В результате исследования автором был сделан вывод, что комбинация мнкРНК let-7i-5p, let-7b-5p, piR020401, piR20497 и piR19675 вносит наибольший вклад в формирование имплантационного потенциала эмбриона. В диссертационной работе предложена формула, позволяющая измерять имплантационный потенциал эмбриона, и на основании

полученных значений оптимизировать выбор эмбриона для переноса в полость матки или для проведения преимплантационного генетического тестирования (ПГТ) и/или криоконсервации. Автор также описывает взаимосвязь ряда мнкРНК с параметрами гаметогенеза (let-7i-5p, piR19675, piR20497 – со сперматогенезом, а let-7b-5p, piR020401 – с оогенезом). В работе проведен анализ продолжительности бесплодия и наличия вторичного бесплодия у супружеской пары с относительным количеством патологических форм сперматозоидов в эякуляте партнера. Определен спектр молекул, дифференцирующий эмбрионы с разной скоростью развития, а также бластоцисты, отличающиеся по качеству согласно морфологическим критериям.

Практическая значимость.

В результате исследования показана целесообразность внедрения анализа профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде эмбриона в алгоритм ведения эмбриологического этапа у пациенток с неудачными попытками ВРТ в анамнезе.

На основании полученных данных разработаны практические рекомендации и предложен алгоритм ведения пациенток с учетом профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде эмбриона в программах ВРТ.

Основные положения и выводы исследования внедрены в практическую деятельность отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава РФ.

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работы, из которых 3 входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК, в том числе 1 статья была опубликована в иностранном журнале IJMS с Impact Factor 4,182.

Оценка содержания диссертации.

Диссертационная работа изложена в традиционной форме и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждение, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

Диссертация написана доступным литературным языком, изложена на 143 страницах, иллюстрирована 17 таблицами и 8 рисунками, включает анализ 179 литературных источников. Во введении описывается актуальность темы, сформулирована цель исследования, научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту, внедрение результатов работы и ее апробация, отражен личный вклад автора.

Первая глава посвящена описанию способов оценки качества эмбриона в рутинной клинической практике, современным подходам определения фертильности с помощью «омиксных» технологий, а также роли мнкРНК (микро- и пивиРНК) в процессах гаметогенеза, раннего эмбриогенеза и имплантации эмбриона. Представлены современные данные о влиянии активации зиготического генома на этапе материнско-зиготического перехода (МЗП), регулируемого мнкРНК, на дальнейшее развитие эмбриона и его имплантационный потенциал. Подробно описан биогенез микро- и пивиРНК в клетке. На основании внушительного числа проанализированных публикаций сформулированы основные результаты мировых исследований в области изучения мнкРНК в культуральной среде эмбриона, а также представлено описание других потенциальных маркеров качества эмбриона и его имплантационной способности и фундаментальные способы анализа данных маркеров в культуральной среде эмбриона.

Во второй главе представлен план и объем обследования, описаны методики исследования. Дизайн исследования продуман и выстроен логично и обоснованно. Критерии отбора в исследование сформулированы четко и подробно. Объем выборки и количество исследований достаточны

и позволили установить необходимый профиль экспрессии мнкРНК в культуральной среде для выбора эмбриона с высоким имплантационным потенциалом. В исследование включена 41 супружеская пара и было проанализировано 109 образцов среды культивирования эмбриона. Методология исследования включает необходимые и достаточные клинико-лабораторные и молекулярно-биологические методы. Анализ профиля экспрессии микро- и пивиРНК в культуральной среде эмбриона был выполнен на 4-ые сутки после оплодотворения методом глубокого секвенирования и количественной ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) в реальном времени. В зависимости от результата программы ВРТ супружеские пары, включенные в исследование, были разделены на две группы: 1 группу составили 25 супружеских пар, у которых в результате лечения в программе ЭКО беременность не наступила, во 2 группу были включены 16 супружеских пар с отрицательным результатом лечения. Всем пациенткам был выполнен селективный перенос эмбриона с последующим анализом уровня бета-ХГЧ в крови через 14 дней.

В третьей главе проведен подробный анализ клинико-анамнестических данных пациентов, включенных в исследование, выполнена оценка возрастных характеристик, менструальной и репродуктивной функции женщин, акушерского анамнеза, описано количество предыдущих попыток программ ВРТ и их исход. В данной главе отражены результаты клинико-лабораторного обследования пациенток, параметров стимулированного цикла, приведен сравнительный анализ параметров гормонального статуса женщин, фолликуло-, оогенеза, раннего эмбриогенеза и исходов программ ВРТ. Показана взаимосвязь количества попыток ВРТ в анамнезе с качеством получаемого эмбриона. Обнаружена прямая корреляция продолжительности бесплодия супружеской пары с относительным количеством патологических сперматозоидов в эякуляте партнера и наличием вторичного бесплодия у

пациентки. В отношении клинико-лабораторных параметров в сравниваемых группах не было получено статистически значимых отличий. Несмотря на то, что группы были сопоставимы по изучаемым параметрам, имплантационный потенциал получаемого эмбриона различался. Согласно результатам диссертационной работы профиль экспрессии piR020401, let-7b-5p, let-7i-5p, piR20497 и piR19675 в среде культивирования эмбриона на 4 сутки после оплодотворения коррелирует с имплантационным потенциалом эмбриона. Благодаря построению модели логистической регрессии на основании изменения профиля экспрессии описанных мнкРНК представляется возможным идентифицировать эмбрионы с высоким имплантационным потенциалом с 87 %-ной специфичностью и 60 %-ной чувствительностью. Согласно разработанной формуле при оценочном параметре более 0,4 эмбрионы обладают высоким имплантационным потенциалом. В работе показано, что повышение уровня экспрессии мнкРНК let-7b-5p, let-7i-5p, piR02040 в культуральной среде эмбриона, отстающего в развитии на сутки, является благоприятным прогностическим маркёром в отношении развития данного эмбриона в бластоцисту отличного качества. Полученные данные еще раз подтверждают важное значение изучаемых мнкРНК в процессах раннего эмбриогенеза. Кроме этого, определяемые в среде культивирования мнкРНК let-7b-5p, let-7i-5p, piR020401, piR16735, piR19675 и piR20326 дифференцируют эмбрионы с различной скоростью развития, а let-7i-5p, piR020401, piR17716, кроме того, отличают бластоцисты разного качества. Определена взаимосвязь профиля экспрессии мнкРНК в среде культивирования эмбриона с параметрами гаметогенеза.

На основании полученных данных был разработан алгоритм выбора эмбриона с высоким имплантационным потенциалом в зависимости от профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде. Анализ результатов исследования проведен с применением современных адекватных статистических методов. Был использован корреляционный анализ,

построены ROC-кривые, использован дискриминантный анализ методом частичных наименьших квадратов (PLS-модель). Для каждого параметра использованы статистические методы анализа, позволившие с высокой степенью достоверности описать полученные закономерности. С помощью продуманного дизайна исследования, использования жестких критериев отбора пациентов, а также благодаря использованию современных высокотехнологичных методов были убедительно подтверждены основные положения данной диссертационной работы, что позволило автору поэтапно обосновать статистически достоверные результаты исследования и сформулировать их в виде логичных выводов и научно обоснованных концептуальных рекомендаций.

В главе «Обсуждение полученных результатов» логично представлены и сопоставлены с данными других авторов основные результаты исследования, разработаны рекомендации по обследованию и ведению пациенток в программах ВРТ. Научные положения диссертации обоснованы и достоверны. Выводы конкретны и соответствуют задачам исследования. Цель диссертационной работы полностью достигнута. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации. Принципиальных замечаний к диссертации нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

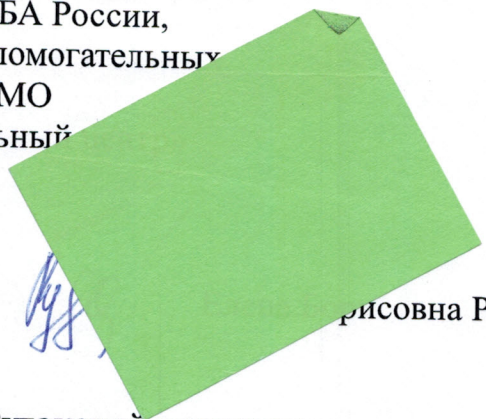
Диссертационная работа Драпкиной Юлии Сергеевны на тему «Оптимизация и индивидуализация программ вспомогательных репродуктивных технологий с использованием профиля экспрессии малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбриона» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение актуальной научной задачи в репродуктологии – прогнозирование эффективности программ ВРТ на основании профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде эмбриона.

Научная новизна, достоверность и объективность материалов исследования, теоретическая и практическая значимость полученных

результатов позволяют считать, что диссертационная работа Драпкиной Юлии Сергеевны полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

Официальный оппонент:

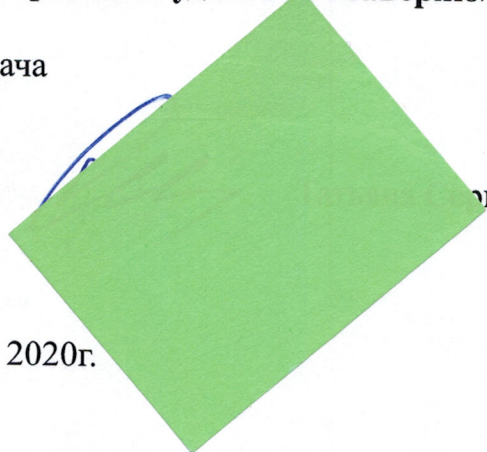
Доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный врач РФ, профессор кафедры АГиП
НЦ ФМБА им. А.И. Бурназяна ФМБА России,
научный консультант отделения вспомогательных
репродуктивных технологий ГБУЗ МО
«Московский областной перинатальный
1439000, Московская область,
г. Балашиха, ш. Энтузиастов, д.12.
тел. 8(498)520-10-95
e-mail:doctor_rudakova@mail.ru



Рисовна Рудакова

Подпись д.м.н., профессора Е.Б. Рудаковой «заверяю»:

Заместитель главного врача
по кадрам ГБУЗ МО
«Московский областной
перинатальный центр»



Рисовна Самбрицкая

«26» 05 2020г.