

**Заключение**

**диссертационного совета Д 208.125.01, созданного на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по диссертации 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.**

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

*разработана* новая научная идея, расширяющая представления о процессах гаметогенеза, эмбриогенеза и имплантации эмбриона, а также о потенциале эмбриона к бластуляции;

*предложена* оригинальная научная гипотеза о механизмах регуляции имплантации эмбриона в программах ВРТ в зависимости от профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде эмбриона, а также о функциональном значении микроРНК и пивиРНК в процессах развития эмбриона и дифференциации бластоцист различного качества;

*доказана* перспективность оценки имплантационного потенциала эмбриона с использованием профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде на 4-е сутки после оплодотворения с помощью разработанной формулы, а также использование уровня экспрессии микроРНК и пивиРНК в культуральной среде как маркера качества бластоцисты и потенциала развития эмбриона;

*введены* новые термины, такие как измерение имплантационного потенциала эмбриона, профиль экспрессии микро- и пивирНК в культуральной среде эмбриона, оценка потенциала эмбриона к бластуляции по профилю экспрессии микро- и пивирНК в культуральной среде, позволяющие прогнозировать наступление беременности в программе ВРТ, что легло в основу разработанного алгоритма персонализированной подготовки и проведения программы ВРТ у супружеских пар.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

*доказаны* положения, вносящие вклад в расширение представлений о материнско-зиготическом переходе, о регуляции эмбриогенеза на доимплантационном этапе, а также о влиянии профиля экспрессии микроРНК и пивирНК в культуральной среде эмбриона на эффективность программы ВРТ;

*применительно к проблематике диссертации результативно использован* комплекс существующих методов исследования мнкРНК в культуральной среде с помощью глубокого секвенирования и реакции обратной транскрипции полимеразной цепной реакции в реальном режиме времени;

*изложены* доказательства прогностической способности мнкРНК, идентифицированных в культуральной среде, в качестве предикторов имплантационной способности эмбриона и потенциала эмбриона к бластуляции;

*раскрыты* новые проблемы, связанные с поиском новых неинвазивных маркеров качества эмбриона, его потенциала к бластуляции и способности бластоцисты к имплантации, для прогнозирования наступления беременности у пациентов в программе ВРТ;

*изучены* причинно-следственные связи профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде эмбриона с параметрами гаметогенеза, стадией развития эмбриона, качеством бластоцисты, а также исходом программы ВРТ;

*проведена модернизация* алгоритмов, обеспечивающих получение новых результатов, для оптимизации выбора наиболее перспективного эмбриона для переноса в полость матки в программе ВРТ на основании профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде.

**Значение полученных соискателем результатов для практики подтверждается тем, что:**

*разработан и внедрен* в практическую работу отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России неинвазивный способ оценки имплантационной способности эмбриона, а также потенциала эмбриона к бластуляции на основании профиля экспрессии микро- и пивиРНК в культуральной среде на 4-е сутки после оплодотворения с целью повышения эффективности лечения бесплодия в программе ВРТ;

*определены* перспективы практического использования предложенной методики определения профиля экспрессии микро- и пивиРНК в культуральной среде эмбриона на 4-е сутки после оплодотворения;

*создана* система практических рекомендаций для оптимизации программы ВРТ у супружеских пар с учетом профиля экспрессии микро- и пивиРНК в культуральной среде эмбриона;

*представлены* методические рекомендации и алгоритм персонализированного проведения программы ВРТ.

### **Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

Результаты получены на сертифицированном оборудовании, с использованием современных методик. Идентификация всех имеющихся мнкРНК в среде культивирования эмбриона была осуществлена методом глубокого секвенирования с использованием набора по синтезу кДНК-библиотек NEBNext® Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina® (Set11, New England Biolab®, Germany) на платформе NextSeq 500 platform (Illumina, USA), согласно инструкции. Относительный уровень экспрессии кДНК оценивали по кратности изменения (КИ) методом  $\Delta\Delta C_t$ . Для нормировки данных ПЦР анализируемых мнкРНК была выбрана hsa-riR023338|gb|DQ601914 ввиду стабильной экспрессии во всех образцах. Объем выборки пациенток, включенных в исследование, был достаточен для решения поставленных задач;

*теория* построена на известных, проверяемых данных и фактах, согласуется с опубликованными данными о факторах, определяющих эффективность программы ВРТ (De Geyter, 2018, Kim J. et al., 2019), о роли мнкРНК в культуральной среде эмбриона (Heidari F. et al., 2019), о прогностическом значении микро- и пивиРНК в определении качества эмбриона и его имплантационного потенциала (Capalbo A. et al., 2016, Russell S. et al., 2017, Abu-Halima M. et al., 2017, Liang J. et al., 2017), о значении материнско-зиготического перехода в процессах эмбриогенеза (Han B. et al, 2015, Liu C. et al., 2018, Toralova T. et al., 2020), о влиянии микроРНК на рецептивность и восприимчивость эндометрия (La Ferlita A. et al., 2018);

*идея* базируется на анализе практических данных, обобщении накопленного опыта ведения супружеских пар в программах ВРТ с учетом оптимизации выбора наиболее качественного эмбриона, обладающего высоким имплантационным потенциалом, на основании профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде, а также на анализе

результатов практической деятельности отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова (руководитель – д.м.н., профессор Калинина Е.А.) и лаборатории прикладной транскриптомики (заведующая – к.б.н. Тимофеева А.В.) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. В работе обобщен мировой опыт, посвященный решению данной проблемы, авторами De Geyter G., Kim J., Heidari F., Capalbo A., Russell S., Abu-Halima M., Liang J., Han B., Liu C., Toralova T., La Ferlita A.;

*использованы* сравнения полученных данных о роли мнкРНК в культуральной среде в процессах развития эмбриона, его имплантации и данных мировой литературы по рассматриваемой тематике;

*установлены* совпадения полученных результатов с данными зарубежных авторов по рассматриваемой проблеме (Kim J. et al, 2019, Heidari F. et al., 2019, La Ferlita A. et al., 2018, Capalbo A. et al., 2016, Russell S. et al., 2017, Abu-Halima M. et al., 2017, Liang J. et al., 2017, No J. et al., 2018);

*использованы* современные методики сбора и обработки первичной документации, сбора, хранения, анализа, первичной обработки и представления клинического материала, представлены репрезентативные выборки (109 образцов среды культивирования, полученные от 41 супружеской пары), позволяющие четко сформировать группы и выявить статистические значимые различия. Статистическая обработка данных выполнена с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и скриптов, написанных на языке R, и программу RStudio.

**Личный вклад соискателя состоит в:**

непосредственном участии автора на всех этапах выполнения диссертационной работы: выборе темы диссертационной работы, поиске и мониторинге данных литературы по теме диссертации, определении целей и задач исследования, разработке индивидуальной анкеты для сбора

анамнеза и добровольного информированного согласия на проведение исследования, изучении анамнеза, результатов клинико-лабораторного обследования пациенток. Автор лично принимала участие в ведении пациентов, включенных в исследование, на всех этапах программы ВРТ. Автор лично собирала материал, а также принимала непосредственное участие в получении, анализе и интерпретации экспериментальных данных, их обобщении и статистической обработке. Автором самостоятельно написан текст диссертации, автореферат, сформированы выводы, практические рекомендации, научные положения. Автором подготовлены публикации по теме исследования.

Проект заключения диссертационного совета подготовили члены диссертационного совета Д 208.125.01:

Председатель комиссии:

доктор медицинских наук, профессор



Назаренко Т.А

Члены комиссии:

доктор медицинских наук, доцент



Мишиева Н.Г.

доктор медицинских наук, профессор



Гус А.И.