

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Хачатрян Зарине Варужановны «Клинико-анамнестические особенности и молекулярно-генетические критерии диагностики задержки роста плода», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология

Данные многоцентровых эпидемиологических исследований показывают, что задержка роста плода занимает одно из ведущих мест в структуре перинатальной заболеваемости и смертности. Современные протоколы включают оценку факторов риска, ультразвуковые и функциональные методы диагностики, однако, не обеспечивают улучшение пренатальной диагностики задержки роста плода, что вызывает потребность в разработке новых неинвазивных прогностических и диагностических маркеров, которые будут направлены на снижение акушерских осложнений.

Диссертационная работа Хачатрян З.В. была проведена на высоком методологическом уровне. На первом этапе подробный анализ клинико-анамнестических данных, особенностей течения беременности и перинатальных исходов у 219 беременных позволил разработать прогностическую модель задержки роста плода. Вторым этапом представлял собой исследование «случай-контроль», которое было направлено на поиск молекулярно-генетических маркеров задержки роста плода. Изучение внеклеточной фетальной ДНК показало статистически значимое снижение ее уровня при задержке роста плода, которое коррелировало не только с морфометрическими характеристиками плаценты, но и массо-ростовыми показателями новорожденных. Полученные гистологические изменения с превалированием стромального компонента при ранней форме задержки роста плода послужили одним из объяснений полученных результатов.

Исследование внеклеточной фетальной ДНК при сочетании задержки роста плода и преэклампсии показало статистически значимое повышение ее

уровня. Дальнейшее гистохимическое исследование плацент TUNEL-методом показало, что уровень внеклеточной фетальной ДНК коррелирует со степенью выраженности апоптоза, что служит свидетельством различного генеза формирования данных осложнений беременности. Проведенный ROC-анализ установил ценность определения внеклеточной фетальной ДНК в отношении диагностики как ранней формы задержки роста плода, так и сочетания задержки роста плода с преэклампсией.

Несмотря на развитие высокотехнологических диагностических методов, вопрос разработки неинвазивных предикторов задержки роста плода в настоящее время остается открытым, что может быть связано с существенным вкладом эпигенетических факторов в регуляцию патогенетических механизмов данного осложнения беременности. В работе было проведено исследование метилирования генов, которые обладают потенциальной ролью в развитии задержки роста плода. Было определено снижение уровня метилирования гена *TLR2* и импринтинг контролирующей области *IGF2/H19* в плаценте, плазме материнской и пуповинной крови, которое свидетельствует о нарушении регуляции метаболических и иммунных процессов. Проведенный ROC-анализ обосновал целесообразность их использования в качестве неинвазивных прогностических маркеров задержки роста плода.

Практическая значимость данной работы заключается в разработке алгоритма диагностики задержки роста плода, использование которого позволит улучшить перинатальные исходы.

Достоверность результатов исследования подтверждается репрезентативностью выборки, а также применением адекватных критериев статистического анализа.

Результаты диссертационной работы отражены в 21 научной работе, из них – 12 в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Материалы исследования были представлены на всероссийских и международных научных конференциях.

Принципиальных замечаний к автореферату диссертации нет.

Таким образом, на основании ознакомления с авторефератом диссертации Хачатрян Зарине Варужановны на тему «Клинико-анамнестические особенности и молекулярно-генетические критерии диагностики задержки роста плода», можно сделать заключение, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, которая соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748, от 01.10.2018 №1168), предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, а автор Хачатрян Зарине Варужановна заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

Заведующая отделом акушерства и гинекологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук, доцент
(специальность 14.01.01 – акушерство и гинекология)

Панова Ирина Александровна

«0» декабрь 2021г.

153045, Ивановская область, г. Иваново, ул. Победы, д. 20
Телефон: +7 (4932) 351846
E-mail: ivniimid@inbox.ru



ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Хачатрян Зарине Варужановны «Клинико-анамнестические особенности и молекулярно-генетические критерии диагностики задержки роста плода», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология

Отсутствие в настоящее время эффективных методов терапии задержки роста плода вызывает потребность в разработке новых прогностических и диагностических методов исследования, которые могут обеспечить выделение групп риска беременных и своевременное начало профилактических мероприятий. В настоящее время перспективным представляется оценка роли внеклеточной фетальной ДНК в диагностике различных плацента-ассоциированных осложнений беременности, в том числе и задержки роста плода. Кроме того, существенное влияние на формирование данной патологии оказывают изменение экспрессии генов путем их эпигенетических модификаций. Изучение эпигенома представляет большой интерес для расширения знаний о патогенетических механизмах, а также разработки новых неинвазивных предикторов задержки роста плода.

Актуальность диссертации Хачатрян З.В. не вызывает сомнений, так как работа посвящена оптимизации диагностики задержки роста плода на основании определения концентрации внеклеточной фетальной ДНК и уровня метилирования генов.

На первом этапе исследования был проведен анализ клинико-анамнестических данных, который позволил выделить факторы риска и разработать модель прогнозирования задержки роста плода.

Второй этап работы заключался в определении концентрации внеклеточной фетальной ДНК в исследуемых группах. Было выявлено статистически значимое снижение уровня данного маркера при ранней форме задержки роста плода, а также определены его концентрации для

верификации форм задержки роста плода. Гистологическое исследование плацент с применением иммунофлуоресцентного анализа показало свойственные для мальперфузии изменения с уменьшением функционального слоя, которые послужили одним из объяснений полученных результатов.

Исследование уровня внеклеточной фетальной ДНК при сочетании преэклампсии и задержки роста плода выявило статистически значимое повышение ее концентрации, в том числе при нормальных доплерометрических показателях, что имеет большое практическое значение. Гистохимическое исследование плацент показало усиление апоптоза при сочетании данных осложнений беременности, которое является не только предполагаемым механизмом повышения концентрации данного маркера, но и указывает на различный генез их формирования.

Следующий этап работы заключался в исследовании уровня метилирования профиля генов. Были получены статически значимые различия в уровне метилирования генов *TLR2* и импринтинг контролирующей области *IGF2/H19* в плаценте и плазме материнской крови, что обосновывает целесообразность их использования в качестве неинвазивных предикторов при ранней форме задержки роста плода. Выявленное снижение уровня метилирования импринтинг контролирующей области генов *IGF2/H19* в пуповинной крови указывает на роль эпигенетических модификаций данных генов не только в формировании задержки роста плода, но и реализации фетального программирования.

Автореферат написан в традиционном формате, включает степень разработанности темы, методологию, основные этапы и результаты проведенного исследования, выводы и практические рекомендации, а также личный вклад автора.

По теме диссертации опубликована 21 научная работа, в том числе 12 в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий,

рекомендованных ВАК РФ. Материалы исследования были представлены на научных конференциях и форумах.

Таким образом, на основании ознакомления с авторефератом диссертации Хачатрян Зарине Варужановны, можно заключить, что диссертационная работа является законченной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 01.10.2018 №1168), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

Профессор кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России
доктор медицинских наук, доцент
(специальность 14.01.01 – акушерство и гинекология)

Боровкова Екатерина Игоревна

«11» 02 2021г.

117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1
Телефон: +7 (495) 434-03-29, +7 (495) 434-61-29
E-mail: rsmu@rsmu.ru

Подпись д.м.н., доцента Боровковой Екатерины Игоревны «заверяю»

Ученый секретарь ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России,
кандидат медицинских наук, доцент



Демина Ольга Михайловна

«__» _____ 2021г.

ОТЗЫВ

101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22 А

на автореферат диссертационной работы Хачатрян Зарине Варужановны
«Клинико-анамнестические особенности и молекулярно-генетические критерии диагностики задержки роста плода», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология

Диссертационная работа Хачатрян З.В. посвящена оптимизации диагностики задержки роста плода на основании изучения клинико-анамнестических особенностей и неинвазивных молекулярно-генетических маркеров.

Задержка роста плода является одной из самых актуальных проблем современного акушерства и перинатологии. Несмотря на непрерывное совершенствование методов пренатальной диагностики, данное осложнение беременности не имеет тенденции к снижению согласно отечественным и зарубежным авторам. Ассоциация задержки роста плода с высокой перинатальной заболеваемостью и смертностью определяет важность ее изучения с целью поиска новых прогностических и диагностических маркеров.

На основании анализа клинико-анамнестических данных и особенностей течения беременности автором была разработана прогностическая модель развития задержки роста плода.

В работе было изучено содержание внеклеточной фетальной ДНК (вфДНК), которое установило статистически значимое снижение данного маркера при ранней форме задержки роста плода в отличие от поздней и группы сравнения. Иммунофлуоресцентное исследование плацент выявило характерные для мальперфузии изменения при ранней форме, которые могут быть одними из предполагаемых механизмов уменьшения уровня вфДНК. Корреляционный анализ показал, что определение вфДНК имеет

прогностическую ценность в определении риска рождения детей с низкими массо-ростовыми показателями.

Задержка роста плода и преэклампсия, как плацента-ассоциированные осложнения беременности, нередко сопутствуют друг другу и характеризуются наиболее неблагоприятными перинатальными исходами. Исследование уровня вфДНК показало наиболее высокое значение данного маркера при сочетании патологий. При этом проведенный ROC-анализ установил высокую чувствительность и специфичность вфДНК в отношении диагностики задержки роста плода и преэклампсии без доплерометрических нарушений, что имеет важное практическое значение.

Несмотря на общеизвестное значение эпигенетических механизмов в патогенезе различных осложнений беременности, данная область остается малоизученной. С целью исследования эпигенетических факторов задержки роста плода автором был определен профиль генов с потенциальной ролью в патогенезе данного осложнения и изучено их метилирование. Установленное снижение уровня метилирования генов *TLR2* и *ICR IGF2/H19* в плаценте, материнской плазме и пуповинной крови определяет целесообразность их использования в качестве неинвазивных предикторов при ранней форме задержки роста плода. Кроме того, выявленное в пуповинной крови aberrантное метилирование импринтинг контролирующей области *IGF2/H19*, участвующих в регуляции метаболических процессов, свидетельствует о его роли в развитии задержки роста плода.

В работе представлен алгоритм диагностики задержки роста плода, который можно рекомендовать для практического применения с целью улучшения перинатальных исходов.

Исследование было проведено на высоком методологическом уровне с использованием современных методов статистической обработки данных, что позволило получить достоверные результаты.

По теме диссертации опубликована 21 научная работа, в том числе 12 в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий,

рекомендованных ВАК РФ. Материалы исследования были представлены на научных конференциях и форумах.

Таким образом, на основании ознакомления с авторефератом диссертации Хачатрян Зарине Варужановны, можно заключить, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748, от 01.10.2018 №1168), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

Заместитель директора ГБУЗ МО
«МОНИИАГ» по научной работе,
доктор медицинских наук, профессор РАН
(специальность 14.01.01 –
акушерство и гинекология)

Зароченцева Нина Викторовна

«06» 02 2021г.

101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а
Телефон: 8-495-623-10-54
E-mail: guzmoniiag@gmail.com

Подпись д.м.н., профессора Зароченцевой Нины Викторовны «заверяю»

Ученый секретарь ГБУЗ МО «Московский
областной научно-исследовательский
институт акушерства и гинекологии»
доктор медицинских наук



Никольская Ирина Георгиевна

« » 2021г.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Хачатрян Зарине Варужановны «Клинико-анамнестические особенности и молекулярно-генетические критерии диагностики задержки роста плода», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология

Отсутствие эффективных превентивных и терапевтических подходов к ведению задержки роста плода диктуют необходимость глубинного изучения ее этиопатогенетических механизмов с целью разработки новых неинвазивных маркеров. В настоящее время внимание исследователей медико-биологических специальностей направлено на изучение прогностической и диагностической ценности внеклеточной фетальной ДНК в отношении различных осложнений беременности, в том числе и задержки роста плода. Кроме того, все большее значение приобретают исследования, направленные на изучение генетических и эпигенетических механизмов формирования данного осложнения беременности.

Актуальность диссертационной работы Хачатрян Зарине Варужановны не вызывает сомнений, так как посвящена оптимизации диагностики задержки роста плода на основании изучения концентрации внеклеточной фетальной ДНК и уровня метилирования генов.

На первом этапе исследования были изучены анамнестические данные, особенности течения беременности, родоразрешения и перинатальных исходов у 219 пациенток. Подробный анализ позволил выделить факторы риска и разработать прогностическую модель задержки роста плода.

На втором этапе работы было проведено определение концентрации внеклеточной фетальной ДНК в исследуемых группах и показано снижение данного маркера при ранней форме задержки роста плода. Проведенный ROC-анализ обосновал целесообразность определения внеклеточной фетальной ДНК для верификации данного фенотипа. Обнаруженные

гистологические изменения в плаценте, которые выражались изменением ее архитектоники с преобладанием стромального компонента, отражают один из механизмов снижения концентрации данной биомолекулы.

Как известно, сочетание таких больших акушерских синдромов, как задержка роста плода и преэклампсия, характеризуется наименее благоприятными акушерскими исходами. Исследование уровня внеклеточной фетальной ДНК при сочетании данных патологий показало его статистически значимое повышение, что коррелировало со степенью апоптоза в плаценте по результатам гистохимического исследования. Кроме того, полученные разнонаправленные результаты послужили одним из свидетельств различного генеза формирования данных осложнений беременности.

На следующем этапе было проведено исследование метилирования генов, обладающих потенциальной ролью в генезе задержки роста плода. Было получено снижение относительного уровня метилирования генов *TLR2* и импринтинг контролирующей области *IGF2/H19* в плаценте и плазме материнской крови, что обосновывает целесообразность их использования в качестве неинвазивных предикторов при ранней форме задержки роста плода. Полученное в пуповинной крови aberrантное метилирование импринтинг контролирующей области генов *IGF2/H19*, которые играют важную роль в регуляции метаболических процессов, свидетельствует о роли эпигенетических модификаций данных генов не только в развитии задержки роста плода, но и реализации фетального программирования.

Автореферат написан в традиционном формате, в нем представлены степень разработанности темы, приведена методология, отражены основные этапы и результаты проведенного исследования, выводы и практические рекомендации, отражен личный вклад автора.

Представленные в автореферате данные имеют большое научное и практическое значение и позволяют сделать вывод о том, что диссертационная работа Хачатрян Зарине Варужановны на тему «Клинико-

анамнестические особенности и молекулярно-генетические критерии диагностики задержки роста плода» является законченной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 №842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 №335, от 02.08.2016 №748, от 01.10.2018 №1168), предъявляемого к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.01.01 – «Акушерство и гинекология».

Заведующий кафедрой акушерства и гинекологии факультета последипломного образования врачей Медицинского института ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова» Министерства образования и науки Российской Федерации

доктор медицинских наук, доцент (специальность 14.01.01 – акушерство и гинекология)

Дуглас Наталья Ивановна

« 04 » февраля _____ 2021г.

677000, г. Якутск, ул. Ойунского, д. 27
Телефон: +7 (4112) 49-67-65
E-mail: mi@s-vfu.ru

Подпись д.м.н., доцента Дуглас Натальи Ивановны «заверяю»

Директор Медицинского института ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова»

кандидат медицинских наук, доцент



Гоголев Николай Михайлович

« 04 » февраля _____ 2021г.