

ОТЗЫВ

официального оппонента члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора Краснопольской Ксении Владиславовны на диссертационную работу Савостиной Гузель Венеровны на тему: «Оптимизация вспомогательных репродуктивных технологий на основании селективного переноса зуплоидного эмбриона с учетом профиля экспрессии малых некодирующих рибонуклеиновых кислот в культуральной среде эмбрионов», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология

Актуальность исследования

Диссертационная работа Савостиной Гузель Венеровны посвящена решению важнейшей задачи репродуктивной медицины – увеличению эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и снижению риска рождения детей с хромосомными аномалиями у супружеских пар с бесплодием различного генеза. Оптимальное качество эмбриона является важнейшим условием для достижения беременности и родов живым здоровым плодом. Однако, определение ключевых параметров имплантационного потенциала и выбор наиболее перспективного для переноса эмбриона все еще остается главной нерешенной проблемой в клинической практике ВРТ.

Проведение преимплантационного генетического тестирования эмбрионов на анеуплоидии (ПГТ-А) является важнейшим этапом в лечении бесплодия у супружеских пар с высоким риском образования анеуплоидных эмбрионов, поскольку позволяет идентифицировать эмбрионы с хромосомными аномалиями на доимплантационном этапе развития. Внедрение современных методов глубокого секвенирования, а именно сравнительной геномной гибридизации (aCGH – array Comparative genomic hybridization), высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS – next generation sequencing), позволило значительно снизить риск переноса анеуплоидного эмбриона в полость матки.

Однако, ПГТ-А все еще не исключает наличие сегментарных и митотических анеуплоидий, оказывающих негативное влияние на имплантационный потенциал эмбриона, а также требует проведения биопсии, обладает высокой стоимостью и трудоемкостью. Большое количество неоднозначных данных о влиянии ПГТ-А на исходы программ ВРТ указывает на необходимость тщательной оценки роли ПГТ-А у пациентов с различными типами бесплодия, а также определение групп пациентов, которым ПГТ-А в программах ВРТ принесет максимальную пользу. Вместе с тем, современные исследования показывают, что нормальный хромосомный набор – не единственное условие для успешной имплантации и родов. Важную роль в эмбриональном развитии играет эпигенетическая регуляция, которая обеспечивает стабильность генома, правильное расхождение хромосом во время клеточного деления, процессы гастрюляции и дифференцировки клеток в процессе эмбрионального развития. И сегодня, благодаря достижениям фундаментальных исследований в области транскриптомики, стали возможными идентификация, изучение особенностей экспрессии и механизмов действия важнейших эпигенетических регуляторов эмбриогенеза, а именно малых некодирующих РНК.

Настоящее исследование посвящено оценке роли ПГТ-А у пациентов с бесплодием различного генеза, а также разработке неинвазивного метода диагностики плоидности и имплантационного потенциала эмбрионов на основании анализа уровня экспрессии малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбрионов, что представляет собой несомненный научный и практический интерес.

Научная новизна

В рамках настоящего исследования впервые предложен неинвазивный метод оценки хромосомного статуса и имплантационного потенциала эмбрионов по профилю малых некодирующих РНК. Представлены особенности экспрессии РНК-маркеров в культуральных средах эуплоидных эмбрионов с различным имплантационным потенциалом и анеуплоидных

эмбрионов. Выявлены статистически значимые корреляции между определенными комбинациями пивиРНК и хромосомным статусом эмбрионов, а также исходами программ ВРТ. На основании полученных данных разработаны модели логистической регрессии, позволяющие с высокой диагностической значимостью идентифицировать эуплоидный эмбрион с высоким имплантационным потенциалом по уровню экспрессии пивиРНК.

Практическая значимость

Диссертантом обоснована целесообразность проведения ПГТ-А у женщин старшего репродуктивного возраста, пациенток с привычным невынашиванием беременности и повторными неудачными попытками имплантации. Показано отсутствие статистически значимого улучшения исходов программ ВРТ при использовании ПГТ-А у супружеских пар с тяжелой патозооспермией.

Разработан вспомогательный неинвазивный метод оценки ploидности эмбрионов, обладающий высокой диагностической значимостью. Поскольку не всегда эуплоидный эмбрион способен имплантироваться в полость матки, были разработаны модели логистической регрессии, позволяющие дифференцировать эуплоидные эмбрионы по уровню имплантационного потенциала. Практическая ценность данного метода также заключается в возможности получения результата в более короткие сроки, экономической доступности и низкой трудоемкости технологического процесса.

На основании проведенной работы диссертантом разработан и предложен для клинической практики алгоритм выбора наиболее перспективного для переноса эмбриона на основании совокупной оценки результатов ПГТ-А и анализа малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбрионов.

Обоснованность и достоверность исследования

Цель и задачи диссертационной работы Савостиной Гузель Венеровны сформулированы четко, работа им полностью соответствует. Общий объем исследования (671 супружеская пара), использование комплекса современных методов генетической диагностики эмбрионов и анализа культуральных сред (высокопроизводительное секвенирование нового поколения, глубокое секвенирование, количественная ПЦР в реальном времени), а также правильное использование методов статистического анализа позволяют утверждать, что научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертации Савостиной Гузель Венеровны достоверны и заслуживают доверия. Диссертационная работа содержит информативные таблицы и диаграммы, которые дополняют текст исследования, делая полученные результаты наглядными и доступными для понимания. Полученные в ходе исследования результаты позволили сформулировать практические рекомендации по ведению пациентов с различными видами бесплодия. Личный вклад автора заключается в планировании и проведении исследования, анализе результатов и статистической обработке данных, а также обобщении и сравнении их с данными современной литературы. По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из которых 4 – в научных изданиях, рецензируемых ВАК.

Оценка содержания диссертации и ее завершенность

Диссертация имеет стандартную структуру, состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа представлена на 171 странице печатного текста, иллюстрирована 10 рисунками и 17 таблицами.

Представленная во введении актуальность исследования не вызывает сомнений. Четко сформулированы цели и задачи исследования. Научная

новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту, сформулированы грамотно и соответствуют содержанию диссертационной работы.

Первая глава включает обзор современных методов оценки имплантационного потенциала эмбрионов в программах ВРТ. В главе представлены возможные причины неудач имплантации и ранних репродуктивных потерь, описаны механизмы образования хромосомных аномалий и феномена мозаицизма, существующие методы оценки плоидности и имплантационного потенциала эмбрионов. А также виды, функции и биогенез малых некодирующих РНК, роль данных молекул в оогенезе, сперматогенезе, эмбриогенезе и имплантации эмбриона.

Во второй главе «Материал и методы исследования» подробно изложен дизайн исследования, критерии включения и невключения в исследование, описаны методы обследования супружеских пар (общеклинические, инструментальные и молекулярно-биологические), особенности проведения различных этапов программ ВРТ, технология проведения ПГТ-А методом NGS, выделение малых некодирующих РНК методом глубокого секвенирования и валидация полученных данных методом количественной ПЦР в реальном времени. Представлены методы статистической обработки данных и условия их применения.

В третьей главе подробно изложены результаты собственных исследований, включая анализ клинико-анамнестических данных супружеских пар, включенных в исследование, а также параметров гонадотропной стимуляции и эмбриологического этапа. Представлены данные о частоте и структуре анеуплоидий у женщин старшего репродуктивного возраста, пациенток с привычным невынашиванием беременности, женщин с повторными неудачными попытками имплантации и супружеских пар с тяжелой патозооспермией, результаты сравнительного анализа исходов программ ВРТ при использовании ПГТ-А и без ПГТ-А. На следующем этапе проанализированы профили экспрессии малых некодирующих РНК в

культуральных средах эмбрионов в зависимости от пloidности и имплантационного потенциала бластоцист. Изложены результаты глубокого секвенирования культуральных сред эмбрионов. Выявлены пивирНК, коррелирующие с хромосомным статусом эмбрионов и исходом программ ВРТ. Полученные данные валидированы методом количественной ПЦР в реальном времени. Разработаны модели логистической регрессии по уровню экспрессии пивирНК, позволяющие идентифицировать эуплоидные эмбрионы с высоким имплантационным потенциалом.

В четвертой главе приводится обобщение и обсуждение полученных результатов диссертационной работы, сравнение их с данными мировой литературы. Изложены возможности, проблемы и перспективы изучаемых методов оценки качества эмбрионов. Выводы и практические рекомендации, сформулированы четко, последовательно вытекают из основного материала, полностью отражают содержание диссертации и соответствуют поставленным задачам. Принципиальных замечаний к работе нет.

Заключение

Исходя из вышеизложенного можно сделать заключение, что диссертационная работа Савостиной Гузель Венеровны на тему «Оптимизация вспомогательных репродуктивных технологий на основании селективного переноса эуплоидного эмбриона с учетом профиля экспрессии малых некодирующих рибонуклеиновых кислот в культуральной среде эмбрионов» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержатся новые пути решения актуальной задачи – повышение эффективности программ ВРТ у супружеских пар с различными типами бесплодия на основании интегральной оценки результатов ПГТ-А и анализа малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбрионов.

По объему проведенного исследования, научной новизне, теоритической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Савостиной Гузель Венеровны соответствует

требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 01.10.2018г. №1168), предъявляемым к кандидатским диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология, а ее автор, Савостина Гузель Венеровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук.

Официальный оппонент

Руководитель отделения репродуктологии
Государственного бюджетного учреждения
здравоохранения Московской области
«Московский областной
научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии»,
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук,
профессор

Краснопольская Ксения Владиславовна

101000, г.Москва,
ул. Покровка, д.22А
Тел.: +7(495) 011-00-42
<https://www.moniiag.ru>

Подпись члена корреспондента РАН,
доктора медицинских наук,
профессора Краснопольской К.В. заверяю:

Ученый секретарь
ГБУЗ МО «МОНИИАГ»
доктор медицинских наук



Никольская Ирина Георгиевна

«26» 09

2024 г.