

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента Вартамян Эммы Врановны 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.

В настоящее время вопросам прогнозирования эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) уделяется особое внимание. Несмотря на постоянное совершенствование методологии ВРТ, частота наступления беременности в расчете на один цикл составляет в среднем по данным мировой статистики 33 % и не имеет тенденции к увеличению. Ведущая причина неэффективности лечения в программах ВРТ заключается в нарушениях имплантации эмбриона. Научный мир до сих пор не имеет окончательного ответа, почему взаимодействие эмбриона с эндометрием не всегда оказывается продуктивным. Во многих исследованиях было показано, что для успешной имплантации необходим координированный «диалог» между рецептивным и восприимчивым эндометрием и качественным эмбрионом с максимальным имплантационным потенциалом. На сегодняшний день для оценки качества эмбриона и его имплантационной способности используются морфологические критерии, предложенные Gardner et al., тем не менее, данный способ оценки остается субъективным и не все эмбрионы «хорошего» или «отличного» морфологического качества успешно имплантируются. Учитывая, что, на сегодняшний день, становится очевидным преимущество переноса одного эмбриона в полость матки в программах ВРТ, поиск дополнительных неинвазивных технологий селективного выбора эмбриона с высоким имплантационным потенциалом представляется актуальной задачей.

Диссертационная работа Драпкиной Юлии Сергеевны посвящена изучению малых некодирующих РНК (мнкРНК) и их роли в определении качества эмбриона и его имплантационного потенциала. За последние годы было изучено

значительное число биомаркеров качества эмбрионов и их имплантационной способности. Достаточно многообещающим методом выступает преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ), однако среди недостатков данного метода стоит выделить необходимость инвазивного вмешательства, риск повреждения эмбриона при биопсии blastomera, вероятность мозаицизма, а также высокую стоимость данной технологии, что приводит к некоторому ограничению использования ПГТ в ежедневной клинической практике. В последние годы пристальное внимание ученых обращено к выявлению роли мнкРНК, секретируемых в культуральную среду, в процессах имплантации эмбриона и его нормального развития в связи с доказанным ранее их многофункциональным действием на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях регуляции экспрессии генов. МнкРНК представляют собой гетерогенный класс молекул, включающий в себя рибосомальные РНК, транспортные РНК, эндогенные малые интерферирующие РНК, микроРНК, пивиРНК, а также малые ядерные и ядрышковые РНК. Среди всех представителей данного класса наибольшим вкладом в формирование клеточного фенотипа обладают микро- и пивиРНК за счет регуляции сигнальных путей, участвующих в пролиферации, дифференцировке, миграции и апоптозе клеток. В данной диссертационной работе основное внимание уделено изучению именно данных представителей мнкРНК и их роли в процессах гаметогенеза, эмбриогенеза и имплантации эмбриона.

Исходя из вышесказанного, актуальность темы исследования представляет большой научный интерес. Изучение новых неинвазивных маркеров качества эмбриона и его имплантационной способности является своевременными и актуальными, а цель исследования, поставленная автором, правомерна и четко сформулирована.

Обоснованность и достоверность полученных данных.

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием современных методов исследования. Полученные данные не вызывают сомнений, так как достоверность их статистически подтверждена.

Работа выполнена на достаточном объеме выборки (109 образцов среды культивирования эмбрионов, полученные от 41 супружеской пары). Супружеские пары были разделены на 2 группы в зависимости от результата программы ВРТ: группа 1 – 25 пациентов с отсутствием имплантации, группа 2- 16 пациентов с успешно наступившей беременностью в программе ВРТ.

Научная новизна.

С помощью продуманного дизайна исследования, использования жестких критериев отбора пациенток, а также благодаря современным высокотехнологичным методам было убедительно доказано основное положение данной работы: мнкРНК let-7i-5p, let-7b-5p, piR020401, piR20497 и piR19675 вносят наибольший вклад в формирование имплантационного потенциала эмбриона. Впервые автор предлагает использовать формулу, позволяющую оценивать имплантационный потенциал эмбриона на основании профиля экспрессии микро- и пивиРНК в культуральной среде. В работе была обнаружена связь уровня экспрессии мнкРНК в культуральной среде эмбриона на 4-е сутки после оплодотворения с параметрами сперматогенеза и оогенеза. Определены молекулы, дифференцирующие бластоцисты разного качества, а также эмбрионы, отличающиеся по скорости развития.

Согласно результатам, описанным в данной работе, потенциал развития эмбриона на стадии 8-клеток может быть определен с помощью анализа уровня экспрессии let-7b-5p, let-7i-5p и piR020401, идентифицированных в культуральной среде. В работе проанализированы продолжительность бесплодия и наличие вторичного бесплодия у супружеской пары в зависимости от наличия патологических форм сперматозоидов в эякуляте партнера.

Практическая значимость.

Практическая значимость работы заключается в том, что в ней обоснована целесообразность внедрения неинвазивного способа оптимизации выбора эмбриона для селективного переноса в полость матки на основании анализа профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде. На основании полученных данных разработана и рекомендована формула предикции имплантационной

способности эмбриона. Предложены маркеры потенциала эмбриона к бластуляции, что позволяет оптимизировать финансово-экономические и временные затраты.

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 написана в соответствии с предъявляемыми требованиями, состоит из введения и четырех глав (обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержит 17 таблиц и 8 рисунков. В списке литературы представлены 179 российских и зарубежных источников.

В разделе «Обзор литературы» дан современный взгляд на различные способы оценки качества эмбриона с помощью «омиксных» технологий, роли микро- и пивирНК в процессах гаметогенеза, раннего эмбриогенеза и имплантации эмбриона. Особый интерес вызывает раздел, посвященный материнско-зиготическому переходу (МЗП), регулируемого мнкРНК. У эмбрионов человека МЗП происходит на 2-3 сутки после оплодотворения и именно качественная и координированная активация зиготического генома на этапе МЗП влияет на дальнейший запуск всей эмбриональной программы. В первой главе описаны механизмы МЗП, а также роль микро- и пивирНК в регуляции данного процесса.

Во второй главе представлен план и объем обследования, описание применяемых методик. Работа выполнена на достаточном материале с

применением современных методов исследования: общеклинических, лабораторных, инструментальных. Критерии отбора сформулированы четко и подробно. В исследование были включены пациентки с трубно-перитонеальным фактором бесплодия, регулярным менструальным циклом и сохраненным овариальным резервом. 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 главе «Результаты исследования» проведен подробный анализ клинико-анамнестических характеристик супружеской пары, оценка особенностей гормонального профиля, показателей спермограммы, параметров фолликулогенеза, оогенеза, эмбриогенеза и исходов программ ВРТ. Результаты работы показывают, что количество попыток ВРТ в анамнезе коррелирует с качеством получаемого эмбриона за счет индивидуализации эмбриологического этапа и специальной подготовки пациенток с неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Обнаружена прямая корреляция продолжительности бесплодия супружеской пары с относительным количеством патологических сперматозоидов в эякуляте партнера и наличием вторичного бесплодия у пациентки. Полученные данные подтверждают важное значение качества сперматозоидов в определении исхода беременности. Несмотря на то, что пациенты в исследуемых группах были сопоставимы по клинико-лабораторным параметрам, имплантационный потенциал получаемых эмбрионов был различен. Для прогнозирования имплантационного потенциала эмбриона в зависимости от профиля экспрессии мнкРНК была построена модель логистической регрессии. Для определения прогностической способности исследуемых мнкРНК была оценена площадь под кривой для разных комбинаций молекул и максимальная площадь была получена мнкРНК let-7i-5p, let-7b-5p, piR020401, piR20497 и piR19675. Формула, построенная на основании модели логистической регрессии, позволяет идентифицировать эмбрионы с высоким имплантационным потенциалом с 87 %-ной специфичностью и 60 %-ной чувствительностью. При оценочном параметре

более 0,4 эмбрионы обладают высоким имплантационным потенциалом и с высокой долей вероятности приведут к наступлению беременности. В работе было установлено, что повышение профиля экспрессии мнкРНК let-7b-5p, let-7i-5p, piR02040, обнаруженных в культуральной среде эмбриона, отстающего в развитии на сутки, определяют его потенциал развития. Кроме этого, определяемые в среде культивирования мнкРНК let-7b-5p, let-7i-5p, piR020401, piR16735, piR19675 и piR20326 дифференцируют эмбрионы с различной скоростью развития и бластоцисты, отличающиеся по качеству согласно морфологическим критериям. Определена взаимосвязь профиля экспрессии мнкРНК в среде культивирования эмбриона с параметрами гаметогенеза (piR16735 и piR020401 - с количеством ооцит-кумулясных комплексов, let-7b-5p и piR020401 - с числом зрелых ооцитов и зигот, let-7i-5p и piR20497 - с количеством сперматозоидов в 1 мл эякулята, piR19675 - с относительным числом прогрессивно подвижных сперматозоидов). На основании полученных данных был разработан алгоритм выбора эмбриона с высоким имплантационным потенциалом в зависимости от профиля экспрессии мнкРНК в культуральной среде.

В заключительной главе в резюмированном виде представлен сравнительный анализ данных, полученных автором, с данными литературы по изучаемой теме. Автору удалось логично и грамотно обосновать полученные результаты, которые наглядно продемонстрированы таблицами и рисунками.

Работа заканчивается выводами и практическими рекомендациями, которые соответствуют теме и содержанию диссертации. Научные положения диссертации обоснованы и достоверны. Выводы конкретны и соответствуют задачам исследования. Цель диссертационной работы полностью достигнута. Опубликованные работы и автореферат полностью отражают суть работы. Принципиальных замечаний к диссертации нет.


ЗАКЛЮЧЕНИЕ

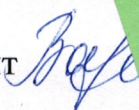
Диссертационная работа Драпкиной Юлии Сергеевны на тему «Оптимизация и индивидуализация программ вспомогательных репродуктивных технологий с

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:

Доцент кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФНМО МИ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации доктор медицинских наук, доцент  мовна

Подпись доктора медицинских наук, доцент  ян Э.В. заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета ФНМО МИ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» доцент, к.м.н.  еся Александровна

«20» мая 2020г.

117198, г.Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6, тел. +7 (495) 434-70-27