

## Заключение

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

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

*разработана* новая научная идея, включающая алгоритм диагностики задержки роста плода на основании определения концентрации внеклеточной фетальной ДНК и уровня метилирования генов, который позволит снизить частоту акушерских осложнений и улучшить перинатальные исходы;

*предложена* оригинальная научная гипотеза, состоящая в том, что снижение концентрации внеклеточной фетальной ДНК при ранней форме задержки роста плода обусловлено гипоплазией и изменением архитектоники плаценты с преобладанием стромального компонента, а абберрантное метилирование генов имеет большое значение в формировании задержки роста плода;

*доказана* перспективность использования новых научных идей в науке, которые заключаются в определении концентрации внеклеточной фетальной ДНК и относительного уровня метилирования генов, участвующих в регуляции иммунных и метаболических процессов, для верификации форм задержки роста плода и улучшения перинатальных исходов;

*введены* новые понятия, которые способствуют своевременной диагностике задержки роста плода. На основании анализа клинико-анамнестических данных разработана прогностическая модель для выделения групп беременных высокого риска по развитию данного осложнения беременности. Показано снижение концентрации внеклеточной фетальной ДНК при ранней форме задержки роста плода, а также прямая корреляционная связь ее уровня с морфометрическими показателями плаценты и массой новорожденного. Представлены характерные для мальперфузии гистологические



особенности плацент при ранней форме задержки роста плода, которые определяют их как потенциальный фактор снижения концентрации внеклеточной фетальной ДНК. Выявлено снижение уровня метилирования генов *TLR2* и импринтинг контролирующей области *IGF2/H19* в плаценте, плазме материнской и пуповинной крови, что отражает их роль в формировании задержки роста плода и определяет целесообразность применения в качестве неинвазивных прогностических маркеров.

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

*доказаны* положения, вносящие вклад в повышение эффективности методов диагностики и прогнозирования задержки роста плода, а также расширяющие представления о механизмах формирования данного осложнения беременности;

*применительно к проблематике диссертации результативно использован* комплекс существующих базовых методов исследования, а также специальных, таких как: полимеразная цепная реакция в режиме реального времени с целью исследования внеклеточной фетальной ДНК в плазме материнской крови, анализ кривых плавления с высоким разрешением (MS-HRM) для изучения уровня метилирования генов в плаценте и плазме венозной крови, метод пиросеквенирования для изучения уровня метилирования генов в пуповинной крови, гистохимическое исследование с применением метода терминального дезоксиуридинового мечения концов (TUNEL) и иммунофлуоресцентного анализа для изучения плацент;

*изложены* доказательства, подтверждающие целесообразность определения концентрации внеклеточной фетальной ДНК для верификации ранней формы задержки роста плода и прогнозирования риска рождения детей с низкими массо-ростовыми показателями, а также уровня метилирования генов, играющих важную роль в формировании задержки роста плода и реализации фетального программирования;

*раскрыты* существенные проявления теории развития задержки роста плода, представлены имеющиеся в литературе противоречия и выявлены новые проблемы, связанные с поиском неинвазивных предикторов задержки роста плода и изучением механизмов формирования фетального программирования, которые требуют проведения дальнейших исследований в этой области. Кроме того, определены новые диагностические подходы к верификации форм задержки роста плода, которые основаны на определении концентрации внеклеточной фетальной ДНК и уровня метилирования генов, регулирующих иммунные и метаболические процессы;

*изучены* факторы, влияющие на развитие задержки роста плода. Была разработана прогностическая модель, которая включила клиничко-анамнестические факторы. Выявлена ассоциация снижения концентрации внеклеточной фетальной ДНК с морфометрическими



показателями и гистологическими изменениями плаценты. Было показано значение эпигенетических модификаций, а именно метилирования генов, в формировании задержки роста плода, а также оценена их потенциальная роль в развитии отдаленных последствий в рамках реализации фетального программирования;

*проведена модернизация* алгоритмов, обеспечивающих получение новых результатов, для оптимизации диагностики задержки роста плода.

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

*разработаны и внедрены* в практическую деятельность акушерского отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России новые технологии и алгоритмы диагностики задержки роста плода;

*определены* пределы и перспективы практического использования теории на практике, а именно предложенного алгоритма диагностики задержки роста плода, который включает выявленные неинвазивные маркеры, что позволит улучшить перинатальные исходы;

*создана* система практических рекомендаций для оптимальной тактики ведения и диагностики беременных с задержкой роста плода;

*представлены* методические рекомендации с учетом определения концентрации внеклеточной фетальной ДНК и уровня метилирования генов TLR2 и импринтинг контролирующей области генов IGF2/H19 в плазме венозной крови, которые позволят своевременно верифицировать беременных с ранней формой задержки роста и разработать оптимальную тактику ведения;

**Оценка достоверности результатов выявила:**

*результаты* получены на сертифицированном оборудовании с использованием современных методик. Определение концентрации внеклеточной фетальной ДНК производилось путем полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием амплификатора CFX96 («BioRad», США), определение уровня метилирования генов осуществлялось с помощью анализа кривых плавления с высоким разрешением на амплификаторе CFX96 («BioRad», США), а также путем пиросеквенирования с использованием пиросеквенатора «PyroMark Q48» («Qiagen», Германия). Объем выборки пациентов, включенных в исследование, был достаточен для решения поставленных целей;

*теория* построена на известных, проверяемых данных и фактах, согласуется с опубликованными данными о роли клиничко-анамнестических факторов в формировании



задержки роста плода (RCOG, 2014; ACOG, 2013), о диагностической ценности определения концентрации внеклеточной фетальной ДНК в отношении задержки роста плода (M. Smid et al., 2006; M. Alberry et al., 2009; K.D. Gerson et al., 2019; D.W. Kwak et al. 2020), о значении эпигенетических модификаций при задержке роста плода (D.K. Bourque et al., 2010; O. Koukoura et al., 2011; J. St-Pierre et al., 2012; P. Rotwein, 2017);

*идея базируется* на анализе данных пациенток с задержкой роста плода, а также на анализе результатов практической деятельности акушерского отделения, лаборатории цитологии и патологоанатомического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России;

*использованы* сравнения авторских данных, полученных в результате исследования и данных полученных ранее по рассматриваемой тематике о роли внеклеточной фетальной ДНК и уровня метилирования генов в диагностике задержки роста;

*установлено* качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике (D.K. Bourque et al., 2010; O. Koukoura et al., 2011; J. St-Pierre et al., 2012; I. Krishna et al., 2016; D. L. Rolnik et al. 2018; D. Morano et al. 2018; J. Carrara et al. 2019; M.A. Clapp et al. 2020);

*использованы* современные методики сбора и обработки исходной информации, хранения, анализа, статистической обработки клинического материала (с использованием электронных таблиц MSOfficeExcel и пакета прикладных программ), представлены репрезентативные выборки, которые позволили четко сформировать группы и выявить статистически значимые различия.

#### **Личный вклад соискателя состоит в:**

непосредственном участии автора на всех этапах выполнения диссертационной работы: выборе темы научного исследования, 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 пациенток, включенных в исследование, участвовала в сборе материала, получении, анализе и интерпретации экспериментальных данных, их обобщении и статистической обработке. Автором самостоятельно написаны текст диссертационной работы, автореферат, сформированы выводы, практические рекомендации, научные положения. Автором подготовлены публикации по теме исследования.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация Хачатрян Зарине Варужановны является научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748, от 01.10.2018 г. №1168), предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Проект заключения диссертационного совета подготовили члены диссертационного совета Д 208.125.01:

**Председатель комиссии:**

доктор медицинских наук, профессор

З.С. Ходжаева

**Члены комиссии:**

доктор медицинских наук, доцент

Н.К. Тетруашвили

доктор медицинских наук, профессор

А.И. Гус