

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертационной работы
Князевой Екатерины Андреевны
на тему «Реализация вспомогательных репродуктивных технологий у
пациенток с бесплодием с учетом молекулярно-генетических
особенностей эндометрия», представленной на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности
14.01.01 – Акушерство и гинекология**

На фоне наблюдающегося в России демографического кризиса особенно актуальной становится проблема бесплодия. По данным Всемирной организации здравоохранения частота бесплодных браков в России превышает 15%. При этом эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) для женщин, страдающих бесплодием, обычно не превышает 30–40%. Конечный результат лечения бесплодия методами ВРТ во многом определяется успехом процесса имплантации эмбриона, в связи с чем изучение свойств эндометрия, определяющих успех имплантации, а также возможное влияние на функцию эндометрия являются вопросами большого научного и практического интереса в настоящее время.

Помимо эмбрионов хорошего качества для успешной имплантации необходимо, чтобы в эндометрии произошли определенные изменения – дифференциация клеток для появления «окна имплантации». Именно в этот период эндометрий становится наиболее восприимчивым к имплантации бластоцисты. Кроме того, процессы появления «окна имплантации» и созревания бластоцисты должны быть синхронизированы. Трансформация эндометрия в периимплантационный период происходит под действием множества регулирующих факторов. В научной литературе представлен широкий спектр возможных потенциальных маркеров восприимчивости эндометрия: цитокины (LIF, ИЛ-1, ИЛ-6), интегрины, факторы роста (НВ-EGF, GM-CSF, VEGF), простагландины и др. Однако ни один из них до сих пор не применяется в рутинной клинической практике для оценки рецепторного статуса эндометрия. В настоящее время в научной литературе продолжается

дискуссия и дальнейшее изучение широкого спектра показателей, характеризующих рецептивный профиль эндометрия, тем не менее, результаты исследований достаточно противоречивы.

В последние годы фокус внимания исследователей сместился на генетические аспекты имплантации. Было показано, что во время «окна имплантации» происходит активная экспрессия одних генов и супрессия других. Также было показано, что гены, кодирующие многочисленные факторы, влияющие на процесс имплантации, претерпевают значительные колебания уровня активности в период «окна имплантации» в зависимости от этапа трансформации эндометрия. В связи с этим перспективным направлением является изучение транскриптомного профиля эндометрия с целью выделения групп ключевых генов, экспрессия которых оказывает влияние на рецептивность эндометрия. В результате анализа активности данных генов представляется возможным прогнозировать и потенциально влиять на исходы программ ВРТ.

В автореферате диссертационного исследования Князевой Екатерины Андреевны изложены результаты, свидетельствующие о возможности прогнозирования эффективности программ ВРТ на основе комплексной оценки транскриптомного профиля эндометрия у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

Автореферат написан в традиционной форме, содержит все обязательные разделы: актуальность, цель и задачи исследования, научную новизну и практическую значимость, положения, выносимые на защиту, основные результаты работы, выводы и практические рекомендации, список опубликованных работ.

Цель диссертационного исследования сформулирована четко, поставленные задачи ее четко раскрывают. Для решения задач применялись адекватные методы исследования. Подробно описан дизайн исследования, который соответствует поставленной цели. Подробно сформулированы

критерии включения/невключения и исключения пациенток из исследования. Объем наблюдений и проведенных исследований вполне достаточно для вынесения адекватных выводов. Выводы соответствуют задачам диссертационного исследования, логичны и закономерно вытекают из содержания работы. Научная новизна исследования не вызывает сомнений. Также очевидна практическая значимость работы. Автором использованы современные методы исследования и статистической обработки данных.

Автором разработана модель прогноза эффективности программы ВРТ у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Данная модель включает данные об экспрессии в эндометрии генов *MSX1 (HOX7)*, *HOXA11* и *TP53I3*. Результаты, полученные автором, позволяют усовершенствовать алгоритм подготовки и проведения программы ВРТ у данной группы пациенток. С учетом данной модели автором предложен алгоритм персонализированной подготовки и проведения программы ВРТ у данной группы пациенток.

По теме диссертации опубликовано 5 научных статей, отражающих её суть. Все статьи опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ.

Автореферат диссертационной работы Князевой Е. А. дает полное представление о широте и значимости проведенного автором исследования, хорошо отражает основные положения работы, сформулированные в выводах и практических рекомендациях.

Принципиальных замечаний по результатам, представленным в автореферате, и их оформлению нет.

Представленные в автореферате данные свидетельствуют о том, что диссертационная работа Князевой Екатерины Андреевны на тему «Реализация вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием с учетом молекулярно-генетических особенностей эндометрия» является законченным научно-квалификационным исследованием, соответствующим

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), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Князева Е. А. заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология.

Главный врач репродуктивной
медицины ГАУЗ «Центр
вспомогательных репродуктивных
технологий Департамента
здравоохранения города Москвы»
доктор медицинских наук,
профессор

Яворовская Ксения Александровна

Подпись д. м. н., профессора К. А. Яворовской «заверяю»:

Специалист отдела кадров
ГАУЗ «ЦВРТ ДЗМ»



Сафронов Артем Владимирович

«18» мая 2017

119331, г. Москва, проспект Вернадского, 33 А, тел. +7 (499) 138-23-76

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертационной работы
Князевой Екатерины Андреевны
на тему «Реализация вспомогательных репродуктивных технологий у
пациенток с бесплодием с учетом молекулярно-генетических
особенностей эндометрия», представленной на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности
14.01.01 – Акушерство и гинекология**

В последние годы, благодаря активному внедрению вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), становится актуальным вопрос повышения эффективности лечения бесплодия с помощью ВРТ. Несмотря на постоянное совершенствование программ ВРТ, только в 30–35 % случаев перенесенный эмбрион успешно имплантируется с последующим развитием беременности, заканчивающейся рождением здорового ребенка. В случае переноса в полость матки эмбрионов хорошего качества и исключения всех явных причин, препятствующих благополучному завершению программы, неудачный исход программы ВРТ расценивают как нарушение на этапе имплантации эмбриона. Известно, что эндометрий в естественном цикле претерпевает ряд морфологических, клеточных и молекулярных изменений, которые необходимы для формирования «окна имплантации» – периода максимальной рецептивности эндометрия, что создает наиболее благоприятные условия для имплантации эмбриона. В последние десятилетия выявлено большое число биологически активных веществ, включая цитокины, факторы роста, молекулы адгезии, компоненты межклеточного вещества, характер выработки которых изменяется в зависимости от этапа трансформации эндометрия и параметров «окна имплантации». Также было показано, что гены, кодирующие эти многочисленные факторы, претерпевают значительные колебания уровня активности в период «окна имплантации». Таким образом, рецептивность эндометрия является результатом скоординированной экспрессии сотен генов. Работы последних лет

определили формирование нового направления в исследовании молекулярно-генетических основ процесса имплантации эмбриона.

В связи с этим диссертационное исследование Князевой Екатерины Андреевны представляется актуальным и современным. В автореферате диссертационной работы представлены новые данные о роли ряда генов эндометрия в формировании рецептивного эндометрия у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

Автореферат написан в традиционной форме с соблюдением всех необходимых разделов согласно требованиям «Положения о присуждении ученых степеней». Цель и задачи диссертационного исследования сформулированы четко и корректно. Для решения задач применялись адекватные методы исследования. Достаточный объем наблюдений и грамотный статистический анализ позволяют считать полученные результаты достоверными и значимыми. Выводы подробно аргументированы и вытекают из результатов работы, соответствуя задачам диссертационного исследования.

Автором разработана прогностическая модель оценки эффективности программы ВРТ у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Данная модель включает данные об экспрессии в эндометрии генов *MSX1 (HOX7)*, *HOXA11* и *TP53I3*. С учетом данной модели автором предложен алгоритм персонализированной подготовки и проведения программы ВРТ у данной группы пациенток.

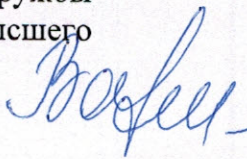
Основные материалы исследования изложены в 5 печатных работах, все из которых опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ.

Принципиальных замечаний автореферат не вызывает.

По своей актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической ценности полученных результатов диссертационная работа Князевой Екатерины Андреевны на тему «Реализация вспомогательных

репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием с учетом молекулярно-генетических особенностей эндометрия» является законченным научно-квалификационным исследованием, соответствующим 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), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Князева Е. А. заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология.


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

 Вартанян Эмма Врамовна
20.05.20

Подпись д. м. н., доцента Э. В. Вартанян заверяю:

Ученый секретарь
Российского университета дружбы народов,
доктор физико-математических наук,
профессор



 Савчин Владимир Михайлович

« ____ » _____

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

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы

Князевой Екатерины Андреевны

на тему «Реализация вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием с учетом молекулярно-генетических особенностей эндометрия», представленной на соискание ученой степени кандидата

медицинских наук по специальности

14.01.01 – Акушерство и гинекология

Автореферат диссертационной работы Князевой Екатерины Андреевны посвящен поиску новых молекулярно-генетических маркеров рецептивности эндометрия, а также возможности прогнозирования вероятности наступления беременности в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Известно, что имплантация эмбриона является сложным, многоступенчатым процессом, регуляция которого осуществляется за счет воздействия большого количества гуморальных факторов и различных молекулярных и межклеточных взаимодействий. Важнейшую роль в имплантации играет рецептивность эндометрия. Для процесса имплантации необходим период наибольшей рецептивности эндометрия – так называемое «окно имплантации». На рецептивность эндометрия оказывают влияние изменения эндометрия на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях. При воздействии повреждающих факторов потеря эндометрием рецептивности означает утрату способности к его взаимодействию с эмбрионом, что приводит к нарушению имплантации или к патологической имплантации. В настоящее время ведется активный поиск маркеров рецептивности эндометрия. Это является перспективным направлением в современной репродуктивной медицине. Выявленные маркеры рецептивности эндометрия могли бы позволить оценивать степень повреждения эндометрия, эффективность проводимой лечебной терапии, а также прогнозировать эффективность программ ВРТ. В качестве маркеров рецептивности эндометрия выделяют морфологические и молекулярные маркеры, а также выделяют уровни рецептивности – генетический, протеомный и гистологический. Однако несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению рецепторного статуса эндометрия, в рутинной клинической практике не существует единого и точного способа оценки рецептивности эндометрия.

Особый научный интерес представляет генетический уровень регуляции рецептивности эндометрия, поскольку в последнее десятилетие была выявлена огромная вовлеченность генов в процессы трансформации эндометрия. Сложность оценки влияния тех или иных генов на процессы рецептивности эндометрия заключается в том, что не существует единого гена, отвечающего за все процессы, в связи с чем исследователи стараются выявить группы наиболее значимых генов. Наиболее известным из выявленных наборов генов для анализа рецептивности эндометрия является тест ERA (*Endometrial receptivity analysis*), однако данный тест не был валидирован для программ с контролируемой гормональной стимуляцией овуляции. В связи с этим актуальной задачей становится поиск совокупностей генов,

которые обладали бы высокой предсказательной ценностью, что могло бы позволить повысить эффективность программ ВРТ за счет персонифицированной оптимизации протокола ведения.

В связи с этим актуальность диссертационной работы Князевой Екатерины Андреевны не вызывает сомнений. Данная работа посвящена изучению роли транскриптома эндометрия и метилирования промоторов ключевых генов эндометрия у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе для прогнозирования эффективности программ ВРТ.

В автореферате Князевой Е. А. кратко представлены литературные данные, подтверждающие актуальность темы выбранного диссертационного исследования, а также описаны цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, основные результаты исследования, выводы и практические рекомендации, список опубликованных работ.

Цель исследования сформулирована четко, поставленные задачи полностью ее раскрывают. Для выполнения поставленных в диссертационной работе задач были применены современные молекулярно-генетические исследования: полногеномный транскриптомный анализ, секвенирование следующего поколения (NGS), полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в реальном времени.

Работа выполнена на достаточном материале. Дизайн исследования хорошо и четко изложен. Автором были использованы адекватные методы статистической обработки данных.

Научная новизна и практическая значимость проведенной работы не вызывают сомнения. В результате работы показано влияние транскрипционной активности генов на рецепторный статус эндометрия и, как следствие этого, наступление беременности в программах ВРТ у исследуемых пациенток. Было выявлено сочетание трех генов – *MSX1 (HOX7)*, *HOXA11* и *TP53I3*, для экспрессии которых была построена модель прогноза вероятности положительного исхода в программах ВРТ. Для указанной комбинации генов получена максимальная площадь под ROC-кривой в сочетании с достаточно высокими показателями чувствительности и специфичности. Бесспорно, полученные данные позволят применять дополнительный малоинвазивный метод для повышения эффективности программ ВРТ.

Также в ходе работы была проведена оценка статуса метилирования промоторов генов *HOXA10* и *HOXA11* в эндометрии пациенток с различными исходами программ ВРТ и было установлено, что данный показатель не играет существенной роли в определении исходов программ ВРТ у исследуемых пациенток. В автореферате также описано изменение общего уровня метилирования генов *HOXA10* и *HOXA11* в эндометрии по всем CpG-островкам и по каждому в отдельности до и после приема эпигаллокатехин-3-галлата. При анализе данных показателей было выявлено потенциально благоприятное влияние данного вещества на профиль экспрессии генов эндометрия.

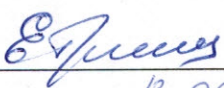
На основании выполненного автором диссертационного исследования разработаны практические рекомендации и алгоритм персонифицированной подготовки и проведения программы ВРТ у пациенток с трубно-перитонеальным

фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе с учетом экспрессии генов *MSX1 (HOX7)*, *HOXA11* и *TP53I3*.

Представленные в автореферате данные имеют важное научно-практическое значение и позволяют сделать вывод о том, что диссертационная работа Князевой Екатерины Андреевны на тему «Реализация вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием с учетом молекулярно-генетических особенностей эндометрия» является законченным научно-квалификационным исследованием, соответствующим 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), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология.

Главный научный сотрудник
лаборатории молекулярной биологии
ФГБНУ «Медико-генетический научный центр
имени академика Н.П. Бочкова»
д.м.н., доц.
Елена Васильевна Проскурнина

Адрес:
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1
Электронная почта: mgnc@med-gen.ru
Телефон: +7 (499) 612-86-07, +7 (499) 612-00-37
Факс: +7 (499) 324-07-02

 2021 г.
13.05.2021

Собственноручную подпись Проскурниной Е.В. заверяю
ученый секретарь ФГБНУ «МГНЦ имени Н.П. Бочкова», д.м.н.



Е.С. Воронина

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертационной работы
Князевой Екатерины Андреевны
на тему «Реализация вспомогательных репродуктивных технологий у
пациенток с бесплодием с учетом молекулярно-генетических
особенностей эндометрия», представленной на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности
14.01.01 – Акушерство и гинекология**

Бесплодие является важной социальной и медицинской общемировой проблемой. Большинство проблем, стоявших изначально перед репродуктивной медициной, к настоящему времени успешно решены. Однако несмотря на постоянное усовершенствование программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), это не приводит к существенному повышению частоты наступления беременности в программах ВРТ; эффективность программ ЭКО составляет в среднем 40%, а частота благоприятного завершения беременности рождением жизнеспособного новорожденного составляет не более 33%. При этом основной проблемой остается отсутствие имплантации при переносе эмбриона хорошего качества в полость матки.

Несмотря на то, что имплантация эмбриона – это многоступенчатый сложный процесс взаимодействия между эмбрионом и эндометрием, ведущую роль в процессе имплантации эмбриона занимает рецептивность эндометрия. Существенная роль эндометрия в процессах нормальной имплантации, развития беременности и родов описана в многочисленных исследованиях, однако важной проблемой является достоверное определение степени функционального развития эндометрия и его готовности к имплантации. В настоящее время не существует общепринятых прямых достоверных методов оценки рецепторного статуса эндометрия. За последние десятилетия было выявлено, что рецептивному эндометрию соответствует образование пиноподий и изменение их морфологии, секреция растворимых регуляторных факторов, появление структурных белков на апикальной

поверхности эпителиальных клеток. Однако все вышеперечисленные процессы возникают вследствие изменения транскрипционной активности генов. В связи с этим в последние годы большой интерес вызывает изучение экспрессии генов эндометрия в период «окна имплантации». Изучение экспрессии массива генов позволяет выявить сочетания ряда генов, которые с высокой точностью помогут оценить рецепторный статус эндометрия у каждой конкретной пациентки. Самым известным из выявленных наборов генов для анализа рецептивности эндометрия на сегодняшний день является тест ERA (Endometrial Receptivity Array), включающий 238 генов эндометрия, участвующих в процессах имплантации, каждый из которых значимо отличается по экспрессии в пререцептивном, рецептивном и пострецептивном эндометрии. Однако данный тест был валидирован на небольшой выборке в циклах циклической гормональной терапии и в естественных циклах и не был оценен в циклах овариальной стимуляции у пациенток с неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

В связи со всем вышеизложенным становится актуальным поиск диагностических и прогностических панелей генов с высокой совокупной предсказательной ценностью, что может позволить повысить эффективность программ ВРТ за счет индивидуальной оптимизации протокола ведения.

Таким образом, диссертационное исследование Князевой Екатерины Андреевны, посвященное изучению влияния транскриптома эндометрия и метилирования промоторов ключевых генов эндометрия на повышение эффективности лечения бесплодия, является, несомненно, актуальным, новым и перспективным направлением современной репродуктивной медицины.

Автореферат написан в традиционной форме, содержит все необходимые разделы, изложен научным языком, последовательно и структурировано, имеет наглядные таблицы и рисунки.

Цель диссертационного исследования сформулирована четко. Для достижения поставленной цели автором сформулированы задачи исследования, тщательно разработан его дизайн. Достаточный объем

собранный и проанализированный материал, корректные современные методы статистического анализа данных позволили автору сделать научно обоснованные, аргументированные и корректно сформулированные выводы и практические рекомендации, соответствующие поставленным задачам и цели исследования. Выводы и практические рекомендации полностью отражают научную и практическую ценность данной работы. Работа выполнена на хорошем методическом уровне. Автореферат полностью отражает материал, изложенный в диссертации.

Автором впервые проведена оценка роли метилирования промоторов генов *HOXA10* и *HOXA11* в эндометрии у исследуемых пациенток. Также автором были детально изучены и подробно отражены в работе специфические изменения транскриптома эндометрия в «окно имплантации», связанные с наступлением и ненаступлением беременности в программе ВРТ у исследуемой группы пациенток.

Важным достижением диссертационной работы явилась разработка модели прогноза исходов программ ВРТ у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократным неудачными попытками ЭКО. Предложенная автором модель основана на впервые полученных в диссертационной работе данных об экспрессии функционально и гомологично связанных генов *MSX1*, *HOXA11* и *TP53I3*. Автор убедительно продемонстрировал важность оценки экспрессии данных генов, направленной на выявление пациенток с низкой вероятностью забеременеть в программе ВРТ. С учетом данной прогностической модели автором предложен алгоритм персонализированной подготовки и проведения программы ВРТ у данной группы пациенток.

Впервые автором была произведена оценка влияния эпигаллокатехин-3-галлата на метилирование промоторов генов *HOXA10* и *HOXA11* и особенности транскриптома эндометрия у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия с неоднократными неудачными попытками ЭКО и гиперплазией эндометрия в анамнезе.

