

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Рудаковой Елены Борисовны на диссертационную работу Князевой Екатерины Андреевны на тему «Реализация вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием с учетом молекулярно-генетических особенностей эндометрия», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология

Актуальность исследования

Несмотря на усовершенствование эмбрионального этапа программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), позволяющего выбрать для переноса в полость матки эмбрионы высокого качества, частота наступления беременности в программах ВРТ остается достаточно низкой и не превышает 30–50%. Одной из возможных причин, влияющих на результативность программ ВРТ, является нарушение имплантации эмбриона. Известно, что для успешной имплантации необходимо сочетание двух основных факторов: рецептивный эндометрий и готовый к имплантации эмбрион. Кроме того, данные процессы должны быть синхронизированы во времени. Нарушение полноценной имплантации при переносе эмбрионов высокого качества в связи с нерцептивным эндометрием является наиболее значимой причиной репродуктивных неудач в программах ВРТ, занимая в их структуре до 70%. В связи с этим в последнее время в фокусе внимания находятся исследования, посвященные изучению рецептивности эндометрия при нарушениях процессов имплантации.

Отдельной проблемой является отсутствие мер воздействия на нерцептивный эндометрий. Применение гормональной терапии, средств, улучшающих микроциркуляцию и реологию крови в ряде случаев безусловно оправдано, однако это не приводит к существенным улучшениям репродуктивных исходов.

Оценка рецепторного статуса эндометрия перед проведением программы ВРТ позволяет прогнозировать вероятность наступления

беременности в данной программе ВРТ и при необходимости провести подготовку эндометрия перед переносом эмбриона. Проблеме рецептивности эндометрия в последние десятилетия посвящено множество исследований, в результате которых были определены различные клеточные и молекулярные маркеры рецептивности. Однако до сих пор в мировой практике отсутствуют точные и высокоспецифичные маркеры оценки рецепторного статуса эндометрия и, как следствие, не существует единой общепринятой системы оценки рецептивности.

В последние годы активно изучается роль различных молекулярно-генетических маркеров эндометрия в процессах имплантации и дальнейшего развития эмбриона. При изучении вопросов бесплодия и исходов в программах ВРТ отмечена роль экспрессии генов на уровне мРНК, а также метилирования промоторов генов как одного из механизмов регуляции экспрессии генов.

Исходя из вышеизложенного, актуальность темы диссертационного исследования, выполненного Князевой Е. А., представляет большой научный интерес. Поиск и изучение новых молекулярно-генетических маркеров эндометрия в группе пациенток с бесплодием и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе является своевременным и актуальным, поскольку позволит усовершенствовать алгоритмы проводимых программ ВРТ с целью повышения их эффективности.

Научная новизна

По результатам данного исследования автором проанализированы изменения транскриптомного профиля эндометрия в период «окна имплантации». Автором было установлено, что профиль экспрессии секреторного эндометрия сильно отличается у пациенток с различными исходами программы ВРТ.

В диссертационной работе Князевой Е. А. впервые предложена формула, позволяющая оценить рецепторный статус эндометрия с учетом экспрессии генов *MSX1 (HOX7)*, *HOXA11* и *TP53I3*. Данная формула

позволяет прогнозировать исходы программ ВРТ у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

В работе автором впервые была изучена роль метилирования промоторов генов *HOXA10* и *HOXA11* в определении исходов программ ВРТ у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Автор также оценивает влияние эпигаллокатехин-3-галлата на транскриптомный профиль эндометрия и статус метилирования генов *HOXA10* и *HOXA11* у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия с неоднократными неудачными попытками ЭКО и гиперплазией эндометрия в анамнезе.

Практическая значимость

Продемонстрирована целесообразность обследования пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе с определением уровня экспрессии выявленных ключевых генов секреторного эндометрия.

На основании результатов работы автором составлен индивидуализированный алгоритм подготовки и проведения программы ВРТ у исследуемой группы пациенток, включающий дополнительные методы обследования и ведения указанных групп пациенток.

Практические рекомендации являются перспективными для применения в клинической практике.

По теме диссертации опубликовано 5 научных работ, все из которых входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 149 страницах, содержит 33 таблицы и 21 рисунок и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований

и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. В списке литературы представлены ссылки на 153 литературных источника (из них 137 зарубежных и 16 отечественных). Название работы точно отражает суть диссертационной работы. Диссертация изложена доступным литературным языком.

Все разделы диссертации содержат необходимые материалы, что позволяет сделать вывод о целостности и законченности проделанной работы.

Во введении автором убедительно обоснована актуальность выбранной для диссертационного исследования темы, четко сформулированы цель и задачи исследования, отдельно отражены научная новизна и практическая значимость проведенного исследования.

Глава 1 представляет собой литературный обзор, цитирующий авторитетные современные источники. Данный обзор написан четко, продуманно, демонстрирует хорошее владение автором данными по теме диссертации. В обзоре автор делает акцент на тех вопросах, которые являются центральными в дальнейшем оригинальном исследовании, и формулирует основные противоречия и неопределенности, существующие на сегодняшний день в понимании рецептивности эндометрия. Обзор литературы разделен на подразделы, четко отражающие суть проблем, рассмотренных автором. Данные обзора позволяют автору аргументированно обосновать актуальность изучаемой проблемы и выбор молекулярно-генетических маркеров для проведения исследования.

В главе 2 «Материалы и методы исследования» подробно изложены дизайн исследования, критерии включения/исключения и невключения в исследование. Одновременно с этим обстоятельно, но, вместе с тем весьма доступно изложены методы диагностики, использованные в диссертационной работе. Всем включенным в исследование пациентам проведено стандартное обследование, регламентированное приказом Минздрава РФ, а кроме того, выполнены дополнительные методы

обследования: аспирационная пайпель-биопсия эндометрия с проведением гистологического исследования эндометрия; полногеномный транскриптомный анализ образцов эндометрия; анализ метилирования промоторов генов *HOXA10* и *HOXA11*. Всего в ходе исследования было обследовано 78 пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Объем выборки и количество исследований вполне достаточны, что позволило решить сформулированные автором задачи. Используемые в работе методы статистической обработки данных современны, адекватны решаемым задачам и не вызывают сомнения в правильности полученных результатов.

В главе 3 дана подробная клиничко-анамнестическая характеристика пациенток, принявших участие в данном исследовании, а также проанализированы особенности овариальной стимуляции и эмбриологические характеристики всех пациенток. Приведены подробные результаты молекулярно-генетических исследований. Детально изложена математическая обработка полученных данных; материал представлен с использованием наглядных таблиц и рисунков.

Несмотря на то, что исследуемые группы пациенток были сопоставимы по анализируемым клиничко-анамнестическим параметрам, вероятность наступления беременности в программе ВРТ в данных группах была различна. Для прогнозирования вероятности наступления беременности у исследуемых пациенток с учетом клиничко-анамнестических данных была построена модель логистической регрессии, которая позволила объяснить 42,6% наблюдаемой дисперсии.

Результаты работы показывают, что у пациенток с различными исходами программ ВРТ имеются значительные различия в экспрессии многих генов эндометрия. Полученные данные подтверждают влияние изменения транскрипционной активности на рецептивность эндометрия и, как следствие, наступление беременности в программах ВРТ.

Для прогнозирования вероятности наступления беременности в программах ВРТ у исследуемой группы пациенток в зависимости от уровня экспрессии генов секреторного эндометрия были построены классификаторы на основе сочетаний экспрессии двух и трех генов. Для определения прогностической способности различных сочетаний генов была проведена оценка площади под кривой, и максимальная площадь в сочетании с высокой чувствительностью и специфичностью была получена для генов *MSX1* (*HOX7*), *HOXA11* и *TP53I3*. Формула, лежащая в основе классификатора, включающего гены *MSX1* (*HOX7*), *HOXA11* и *TP53I3*, позволяет прогнозировать наступление беременности в программе ВРТ с чувствительностью 73% и специфичностью 71%. При этом прогностическая ценность отрицательного результата составила 85%, а положительного – 55%.

В работе было установлено, что метилирование отдельных CpG-островков промоторных участков генов *HOXA10* и *HOXA11* является консервативным параметром и не вносит значимого вклада в определение исхода программ ВРТ у исследуемых пациенток,

В работе также была проведена оценка изменения общего уровня метилирования промоторов по всем CpG-островкам генов *HOXA10* и *HOXA11* и по каждому CpG-островку в отдельности до и после приема эпигаллокатехин-3-галлата пациентками с трубно-перитонеальным фактором бесплодия с неудачными попытками ЭКО и гиперплазией эндометрия в анамнезе. Было выявлено, что общий уровень метилирования промоторов генов *HOXA10* и *HOXA11* в ответ на прием эпигаллокатехин-3-галлата статистически значимо не меняется. При оценке метилирования отдельных CpG-островков промоторов вышеуказанных генов были обнаружены статистически значимые изменения в двух CpG-островках гена *HOXA10* и тенденция к снижению метилирования в еще одном CpG-островке. Также в работе было показано, что эпигаллокатехин-3-галлат потенциально благоприятно влияет на профиль экспрессии генов эндометрия, во-первых, за счет повышения экспрессии тех генов, которые кодируют секретлируемые

внеклеточные факторы, трансмембранные белки, компоненты системы комплемента и иммунного ответа, молекулы адгезии и цитоскелета, а во-вторых, за счет снижения экспрессии генов, связанных с окислительно-восстановительными процессами в клетке, метаболизмом липидов, стероидов и холестерина, трансмембранными белками.

На основании полученных данных автором был разработан алгоритм персонализированной подготовки и проведения программы ВРТ у пациенток с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

В заключительной главе представлен сравнительный анализ данных, полученных автором в диссертационном исследовании, с данными мировой литературы по изучаемой теме. Можно отметить, что выводы ряда исследователей подтверждены результатами данной работы. Автору удалось логично и грамотно изложить полученные результаты.

Диссертационная работа Князевой Е. А. завершается выводами и практическими рекомендациями, которые тезисно отражают суть и содержание диссертации. Выводы, следующие из результатов работы, конкретны и достаточно хорошо сформулированы автором. Практические рекомендации, разработанные автором, вполне конкретны и представляют практический интерес.

Автореферат содержит все необходимые разделы и полностью отражает содержание диссертации. Опубликованные по теме диссертации работы надежно подтверждают результаты, полученные в диссертационной работе. Принципиальных замечаний к диссертации нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Князевой Екатерины Андреевны на тему «Реализация вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием с учетом молекулярно-генетических особенностей эндометрия» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена научная задача по оптимизации ведения пациенток с трубно-перитонеальным

фактором бесплодия и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

Научная новизна, достоверность полученных автором данных, практическая значимость результатов исследования позволяет считать, что диссертационная работа Князевой Е. А. 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), 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:

Доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный врач РФ, профессор кафедры
АГиП НЦ ФМБА им. А. И. Бурназяна ФМБА
России, научный консультант отделения
вспомогательных репродуктивных
технологий ГБУЗ МО «Московский
областной перинатальный центр»
1439000, Московская область,
г. Балашиха, ш. Энтузиастов, д.12.
Тел.8(498)520-10-95
e-mail:doctor_rudakova@mail.ru

Рудакова Елена Борисовна

13 мая 2022 г.

Подпись д. м. н., профессора Е. Б. Рудаковой заверяю:

Заместитель главного врача
по кадрам ГБУЗ МО
«Московский областной
перинатальный центр»



Самбрицкая Татьяна Сергеевна