

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Рудаковой Елена Борисовны на диссертационную работу 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», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология

### Актуальность исследования

Частота наступления беременности в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в т.ч. в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и переноса криоконсервированных/размороженных эмбрионов, все еще не превышает 30-40%. Важным фактором такой ситуации является не до конца решенная проблема выбора эмбриона с оптимальным имплантационным потенциалом для переноса в полость матки. Высокая частота хромосомных нарушений в эмбрионах человека, их вклад в развитие ранней эмбриональной гибели и неудач имплантации в программах ВРТ, а также современная тенденция к позднему деторождению определяют важное практическое значение анализа хромосомного статуса эмбрионов. Внедрение преимплантационного генетического тестирования эмбрионов на анеуплоидии (ПГТ-А) позволило оптимизировать выбор наиболее перспективного для переноса эмбриона и вселило надежду на улучшение исходов программ ВРТ у супружеских пар с высоким риском образования анеуплоидных эмбрионов. Однако спустя десятилетия активного использования ПГТ-А, все больше зарубежных и отечественных авторов подвергают сомнению положительное влияние данного метода на результативность программ ВРТ. Основные опасения связаны с риском ложных результатов на фоне высокой встречаемости хромосомного мозаицизма в эмбрионах человека. Вместе с тем биопсия чувствительного к любым механическим воздействиям эмбриона может оказывать негативное

влияние на дальнейшее развитие и имплантационный потенциал бластоцисты.

С другой стороны, как известно, раннее эмбриональное развитие также контролируется различными эпигенетическими механизмами. И хотя на сегодняшний день исследования в области эпигенетики находятся на начальной стадии, благодаря развитию методов глубокого секвенирования знания о механизмах и функциях различных эпигенетических регуляторов эмбриогенеза существенно расширились. По мере своего развития эмбрион выделяет малые некодирующие РНК непосредственно в культуральную среду, что позволяет изучать особенности их экспрессии без необходимости инвазивного воздействия на эмбрион. Все больше исследователей склоняются к необходимости оценки качества эмбриона сразу с нескольких сторон, включая морфологические характеристики, хромосомный статус и эпигенетические маркеры, что позволит получить более полную информацию об эмбрионе и оптимизировать селективный перенос. Однако, на сегодняшний день опубликованы единичные исследования, направленные на поиск потенциальных маркеров качества бластоцисты по уровню экспрессии малых некодирующих РНК.

Исходя из вышеизложенного, диссертационная работа Савостиной Г.В., посвященная разработке вспомогательного неинвазивного метода оценки ploидности и имплантационного потенциала эмбрионов по уровню экспрессии малых некодирующих РНК, представляется крайне актуальной и имеет значимость для решения современных проблем репродуктивной медицины.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Цель исследования сформулирована четко и достигается реализацией 5 задач. Обоснованность и достоверность полученных результатов исследования определяется следующими позициями: исследование имеет ретроспективный и проспективный разделы; автором выстроен

многоэтапный (4 этапа) дизайн исследования в полном соответствии с поставленными задачами. Сформированные группы наблюдения отвечают признакам репрезентативности – по объему участников исследования: на ретроспективном этапе проанализированы данные 671 супружеской пары, прошедших стимулируемые и криоциклы; группу наблюдения составили 323 супружеские пары, которым проводились программы ЭКО/ИКСИ и ПГТ-А; по разработанным критериям включения и невключения в исследование: по анамнестическому и соматическому статусу, а также по статусу фертильности и результатам репродуктивного цикла, беременности и родов с учетом плоидности эмбрионов. В работе соблюдены требования как по обследованию супружеских пар для программ ВРТ, так и по ведению репродуктивных циклов ЭКО и переноса криоконсервированных /размороженных эмбрионов согласно нормативным документам Российской Ассоциации Репродукции Человека (РАРЧ) и МЗ РФ.

В работе использован комплекс стандартных лабораторных и аппаратных методов исследования, а также специальные методы: ПГТ-А эмбрионов методом NGS, выделение мнкРНК из образцов культуральных сред и идентификация всех имеющихся пивиРНК методом глубокого секвенирования. Статистическая обработка данных выполнена на высочайшем уровне с использованием скриптов, написанных на языке R и программы RStudio.

Таким образом, выполнение цели и решение задач основаны на адекватном дизайне исследования, достаточном объеме фактического материала, актуальных методах оценки клинических и лабораторных показателей, современных методах статистического анализа, что позволяет считать научную новизну, выдвигаемые на защиту положения, выводы работы, практические рекомендации достоверными.

### **Научная новизна**

В рамках настоящего исследования представлены данные о частоте и структуре хромосомных аномалий в различных группах пациентов. Проведен

сравнительный анализ результативности программ ВРТ с ПГТ-А и без ПГТ-А у женщин старшего репродуктивного возраста, пациенток с привычным невынашиванием беременности, повторными неудачными попытками имплантации и тяжелыми нарушениями сперматогенеза у партнера. Изучен профиль экспрессии малых некодирующих РНК в культуральных средах эмбрионов с различным хромосомным статусом и имплантационным потенциалом. Впервые идентифицированы пивиРНК, коррелирующие с плоидностью бластоцисты и исходами программ ВРТ. Разработан неинвазивный метод оценки качества бластоцисты по уровню экспрессии малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбрионов.

### **Практическая значимость**

Настоящая работа имеет несомненную практическую значимость. Ценным является разработка метода оценки качества эмбриона по профилю малых некодирующих РНК, который позволяет в короткие сроки (4 часа) получить информацию о плоидности бластоцисты и выбрать эмбрион с оптимальным имплантационным потенциалом без необходимости инвазивного воздействия. Также в рамках настоящего исследования диссертантом продемонстрировано положительное влияние результатов ПГТ-А на исходы программ ВРТ у женщин старшего репродуктивного возраста, пациенток с привычным невынашиванием и повторными неудачными попытками имплантации. Тогда как у супружеских пар с тяжелыми нарушениями сперматогенеза применение ПГТ-А не показало ожидаемого улучшения исходов программ ВРТ, что было отражено в практических рекомендациях. Предложен алгоритм выбора наиболее перспективного для переноса эмбриона на основании интегральной оценки результатов ПГТ-А и профиля малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбрионов.

**Содержание диссертационной работы, ее завершенность и оформление**

Диссертационная работа Савостиной Г.В. изложена на 171 странице машинописного текста, имеет стандартную структуру, включает пять глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов и заключение) выводы, практические рекомендации, список сокращений, список литературы. В тексте представлено 10 рисунков, 17 таблиц и 1 приложение. При написании диссертации проанализировано 264 источника, среди которых 23 работы отечественных авторов и 241 зарубежное исследование. Название диссертации в полной мере отражает суть работы. Представленная актуальность не вызывает сомнений и основывается на современных данных опубликованных исследований.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, изложены практическая значимость и научная новизна исследования, положения, выносимые на защиту, апробация и внедрение результатов в практическую деятельность.

Первая глава посвящена обзору современных литературных данных по теме исследования и полностью раскрывает рассматриваемую проблему. Автором описаны причины отсутствия наступления беременности и ранних репродуктивных потерь в программах ВРТ, механизмы образования анеуплоидий в эмбрионах человека, раскрыта проблема хромосомного мозаицизма, подробно описаны современные методы диагностики анеуплоидий и перспективные методы оценки имплантационного потенциала эмбрионов, представлены современные данные о малых некодирующих РНК, механизмах действия и их роли в оогенезе, сперматогенезе и эмбриогенезе.

Во второй главе описаны используемые методы диагностики – общеклинические, инструментальные, лабораторные. Подробно описаны методы идентификации малых некодирующих РНК в культуральных средах эмбрионов и ПГТ-А. Разработан дизайн исследования, определен объем выборки, критерии включения и невключения в исследование, сформированы изучаемые группы. Основную группу составили пациенты,

обратившиеся для проведения программ ВРТ с ПГТ-А, которая была распределена на 4 подгруппы в зависимости от показаний к ПГТ-А. Группу сравнения составили пациенты, которым проводились программы ВРТ без ПГТ-А, которые также были распределены на 4 соответствующие подгруппы в зависимости от показаний к ПГТ-А. Достоверность исследования определяется репрезентативностью выборки, использованием современных и актуальных методов медицинской статистики, адекватно составленными дизайном и задачами исследования.

В третьей главе диссертантом изложены полученные результаты. Представлен анализ клинико-anamнестических и лабораторных параметров пациенток, включенных в исследование. Проанализированы результаты ПГТ-А, представлена структура хромосомной патологии в исследуемых группах пациентов. Описаны результаты сравнительного анализа результативности программ ВРТ с ПГТ-А и без ПГТ-А у пациенток, включенных в исследование. Приведены подробные результаты молекулярно-биологического исследования культуральных сред эуплоидных эмбрионов с различным имплантационным потенциалом и анеуплоидных эмбрионов. Проанализирован профиль малых некодирующих РНК в культуральных средах эмбрионов в зависимости от их хромосомного статуса и результатов программ ВРТ. Идентифицированы пивиРНК, по уровню экспрессии которых возможно идентифицировать эуплоидный эмбрион с оптимальным имплантационным потенциалом. Описаны функции белковых продуктов, выявленных пивиРНК. На основании полученных данных построены модели логистической регрессии для определения плоидности и имплантационного потенциала эмбриона по уровню экспрессии определенных комбинаций пивиРНК в культуральной среде эмбрионов.

Четвертая глава посвящена обсуждению значимых результатов, анализу и сопоставлению полученных данных с результатами других современных исследований, что позволило диссертанту сформулировать научные выводы.

В главе «Заключение» обобщены основные результаты диссертационной работы, обсуждены дальнейшие перспективы исследования, основные положения работы, при этом автор проявила способность к анализу и эрудицию.

Выводы и практические рекомендации сформулированы четко, основаны на полученных результатах, соответствуют поставленной цели и задачам исследования и определяют положения выносимые на защиту.

Содержание автореферата соответствует основным данным диссертационной работы. Все результаты исследования опубликованы в рецензируемых журналах рекомендованных ВАК. Принципиальных замечаний к диссертации нет, но есть 2 вопроса:

1. Можно ли сказать какой процент эуплоидных эмбрионов обладает низким имплантационным потенциалом, и как это можно объяснить?
2. Возможно ли в современных условиях широкое внедрение в практику анализа профиля мнкРНК?

### **Заключение**

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», выполненная под руководством доктора медицинских наук Перминовой Светланы Григорьевны, представляет собой законченную полноценную научно-квалификационную работу, предлагает новое решение актуальной научной задачи в репродуктивной медицине, а именно оптимизации селективного переноса эмбриона на основании интегральной оценки результатов ПГТ-А и неинвазивного метода оценки профиля экспрессии малых некодирующих РНК в культуральной среде эмбрионов. Научная новизна, достоверность и объективность полученных данных, теоретическая и практическая значимость результатов исследования

позволяют считать, что диссертационная работа Савостиной Гузель Венеровны 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 01.10.2018г. №1168), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант Савостина Гузель Венеровна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология.

### Официальный оппонент

Доктор медицинских наук,  
профессор, заслуженный врач РФ,  
научный консультант отделения  
вспомогательных репродуктивных  
технологий ГБУЗ МО «Московский областной  
перинатальный центр»;  
профессор кафедры АГиП  
медико-биологического университета  
инноваций и непрерывного образования  
ФГБУ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна» ФМБА России  
1439000, Московская область,  
г. Балашиха, ш. Энтузиастов, д.12.  
Тел. 8 (498) 520-10-95  
e\_mail: [doctor\\_rudakova@mail.ru](mailto:doctor_rudakova@mail.ru)



Рудакова Елена Борисовна

« 19 » января

2024 г.

Подпись доктора медицинских наук, профессора, заслуженного врача РФ Рудаковой Елены Борисовны заверяю:

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



Самбрицкая Татьяна Сергеевна

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной перинатальный центр» (ГБУЗ МО «Московский областной перинатальный центр»)

143900, Московская область, г. Балашиха, ш. Энтузиастов, д.12

Телефон 8 (495) 529-50-13. E-mail: [морс02@mail.ru](mailto:морс02@mail.ru)