

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора  
Вартамян Эммы Врамовны на диссертационную работу Шаминой Марии  
Александровны на тему: «Оптимизация лечения бесплодия у пациентов с

повторным отсутствием имплантации эмбриона на основании оценки  
профиля экспрессии малых некодирующих РНК», представленной на  
соискание ученой степени кандидата медицинских наук по  
специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология.

Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
ул. Островитянова, дом 1, Москва, 117997  
Телефон: (495) 434-03-29, (495) 434-61-29

3.1.4. 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 30–40%. Одной из значимых причин, влияющих на результативность программ ВРТ, является нарушение физиологического течения оогенеза и сперматогенеза с формированием качественных гамет, определяющих имплантационный потенциал эмбриона, образуемого в результате их слияния. В связи с этим в последнее время в фокусе внимания находятся исследования, посвященные изучению причин нарушений гаметогенеза и эмбриогенеза, поиску неинвазивных методов диагностики с целью своевременного предотвращения и коррекции данных нарушений.

Проблеме нарушений гаметогенеза и эмбриогенеза в последние десятилетия посвящено множество исследований, в результате которых были определены различные клеточные и молекулярные биомаркеры. Однако до сих пор в мировой практике отсутствуют точные и высокоспецифичные маркеры оценки качества оогенеза, сперматогенеза, а также эмбриогенеза и, как следствие, не существует единой общепринятой системы оценки качества данных физиологических процессов.

В последние годы активно изучается роль различных молекулярно-биологических маркеров в процессах гаметогенеза и дальнейшего развития

эмбриона. При изучении вопросов бесплодия и исходов в программах ВРТ отмечена роль экспрессии малых некодирующих РНК, так как данные молекулы важны для реализации многих клеточных процессов, выполняя свои регуляторные функции внутри клетки, и обеспечивают межклеточную коммуникацию. Было проведено множество исследований, направленных на изучение их роли в оогенезе, оценке качества ооцита и эмбриональном развитии. Также получены данные, что изменение профиля экспрессии малых некодирующих РНК в семенной плазме может привести к нарушениям сперматогенеза и последующему аномальному развитию эмбриона.

Вследствие этого, диссертационная работа Шаминой Марии Александровны, направленная на поиск и изучение новых молекулярно-биологических маркеров качества гаметогенеза и эмбриогенеза у супружеских пар с бесплодием и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе, а также разработку с учетом этих маркеров алгоритма программ ВРТ с целью повышения их эффективности представляет большой фундаментальный и практический интерес, является актуальной и своевременной. Разработанный алгоритм позволит индивидуализировать подход к ведению бесплодной пары с неудачами ЭКО в анамнезе, а также прогнозировать исходы программ ВРТ.

### **Научная новизна**

По результатам данного исследования автором проанализированы изменения профиля экспрессии малых некодирующих РНК в фолликулярной жидкости, семенной плазме и культуральной среде эмбриона на 5-е сутки культивирования. Автором было установлено, что профиль экспрессии данных молекул сильно отличается у пациенток с различными исходами программы ВРТ.

В диссертационной работе Шаминой М.А. впервые предложена формула, позволяющая оценить имплантационный потенциал бластоцисты с учетом экспрессии hsa-let-7a-5p, hsa-miR-381-3p, hsa\_piR\_020497,

hsa\_piR\_008113, hsa\_piR\_022258. Данная формула позволяет прогнозировать исходы программ ВРТ у бесплодных пар с неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

В работе автором был изучен профиль экспрессии малых некодирующих РНК в фолликулярной жидкости и семенной плазме с последующей оценкой их влияния на гаметогенез у бесплодных пар с неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Определены мнкРНК в фолликулярной жидкости, оказывающие влияние на оогенез и позволяющие прогнозировать наличие качественного ооцита, а также мнкРНК, влияющие на сперматогенез и оплодотворяющую способность сперматозоидов. Установлено, что уровень экспрессии мнкРНК, ассоциирующихся с качеством гамет, статистически значимо коррелирует с уровнем экспрессии мнкРНК, определяющих имплантационный потенциал бластоцисты хорошего/отличного качества.

### **Практическая значимость**

Продемонстрирована целесообразность обследования бесплодных пар с неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе с определением уровня экспрессии выявленных ключевых малых некодирующих РНК, определяющих качество гаметогенеза и имплантационный потенциал бластоцисты. На основании результатов работы автором составлен индивидуализированный алгоритм подготовки и проведения программы ВРТ у исследуемой группы бесплодных пар, включающий дополнительные методы обследования и ведения указанной группы.

Практические рекомендации являются перспективными для применения в клинической практике.

По теме диссертации опубликовано 4 научные работы, 2 из которых входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, 1 статья была опубликована в иностранном журнале Life (SCOPUS), 1 статья

была опубликована в иностранном журнале International Journal of Molecular Sciences (SCOPUS).

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа изложена на 144 страницах, содержит 20 таблиц и 23 рисунка 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 140 литературных источника (из них 125 зарубежных и 15 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 роли малых некодирующих РНК в гаметогенезе и эмбриогенезе. Обзор литературы разделен на подразделы, четко отражающие суть проблем, рассмотренных автором. Данные обзора позволяют автору аргументированно обосновать актуальность изучаемой проблемы и выбор молекулярно-биологических 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: выделение РНК колоночным способом из образцов фолликулярной жидкости, семенной плазмы, культуральной среды эмбриона с последующей идентификацией всех имеющихся мнкРНК методом глубокого секвенирования; валидация данных секвенирования производилась методом количественной ПЦР в реальном времени. Всего в ходе исследования было обследовано 108 бесплодных пар с неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе, при этом исследование молекулярно-биологического профиля фолликулярной жидкости, семенной плазмы и культуральной среды эмбриона было проведено у 52 пар. Объем выборки и количество исследований вполне достаточны, что позволило решить сформулированные автором задачи. Используемые в работе методы статистической обработки данных современные, адекватны решаемым задачам и не вызывают сомнения в правильности полученных результатов.

В главе 3 дана подробная клиничко-анамнестическая характеристика бесплодных пар, принявших участие в данном исследовании, а также проанализированы особенности овариальной стимуляции и эмбриологические параметры данных пар. Приведены подробные результаты молекулярно-биологического исследования. 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. Результаты работы показывают, что у пациенток с различными исходами программ ВРТ имеются значительные

различия в профиле экспрессии ключевых малых некодирующих РНК. Полученные данные подтверждают влияние изменения молекулярно-биологического профиля фолликулярной жидкости, семенной плазмы и культуральной среды на качество гаметогенеза и последующего эмбриогенеза и, как следствие, наступление беременности в программах ВРТ.

Для прогнозирования вероятности наступления беременности в программах ВРТ у исследуемой группы пациенток был проанализирован профиль экспрессии малых некодирующих РНК в образцах культуральной среды, полученной от эмбрионов хорошего/отличного качества. На основании полученных значений были разработаны различные варианты модели логистической регрессии для расчета вероятности имплантации эмбриона. При этом, прогностическая точность моделей при оценке уровня экспрессии мнкРНК в любой комбинации составила 100 % (AUC = 1, чувствительность — 100 %, специфичность — 100 %, частота истинно положительных результатов — 1, частота ложноположительных результатов — 0).

На следующем этапе производилась оценка уровня экспрессии мнкРНК в образцах фолликулярной жидкости. На основании полученных результатов найдена наилучшая комбинация мнкРНК, по уровню экспрессии которых построена модель, статистически значимо ( $p=0,002$ ) прогнозирующая со 100 % чувствительностью и 72 % специфичностью наличие качественного ооцита в фолликулярной жидкости, способного к оплодотворению и образованию бластоцисты хорошего/отличного качества с высоким имплантационным потенциалом.

Далее производилась оценка уровня экспрессии мнкРНК в образцах семенной плазмы обследованных пар. Учитывая полученные данные, была произведена оценка возможной взаимосвязи мужского фактора бесплодия и качества получаемых эмбрионов у одной и той же бесплодной пары. Были найдены корреляции уровня экспрессии мнкРНК семенной плазмы с уровнем экспрессии мнкРНК в среде культивирования получаемой бластоцисты. При этом прогностическая точность моделей при оценке уровня экспрессии

мнкРНК в семенной плазме составила 100 % (AUC = 1, чувствительность — 100 %, специфичность — 100 %, частота истинно положительных результатов — 1, частота ложноположительных результатов — 0).

При анализе белковых продуктов генов-мишеней выявленных ключевых мнкРНК, было установлено, что данные молекулы участвуют в основных процессах раннего эмбриогенеза, четкая координация которых в клеточном пространстве и времени обеспечивает правильное развитие эмбриона.

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 Шаминой М.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. На основании полученных данных автором был разработан алгоритм персонифицированной подготовки и проведения программы ВРТ у бесплодных пар с неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

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 Шаминой Марии Александровны на тему «Оптимизация лечения бесплодия у пациентов с повторным отсутствием имплантации эмбриона на основании оценки профиля экспрессии малых

некодирующих РНК» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена научная задача по оптимизации ведения бесплодных пар с и неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

Научная новизна, достоверность полученных автором данных, практическая значимость результатов исследования позволяет считать, что диссертационная работа Шаминой М.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 3.1.4. Акушерство и гинекология.

#### **Официальный оппонент:**

доктор медицинских наук,  
профессор кафедры акушерства и гинекологии  
лечебного факультета ФГАОУ ВО  
Российский национальный исследовательский  
медицинский университет имени Н.И. Пирогова  
Минздрава России  
117997, г. Москва,  
ул. Островитянова, д. 1.  
Тел.: +7(495)628-44-53  
e-mail: emma-vartanyan@mail.ru

Вартанян Эмма Врамовна

«27» 12 2022 г.

#### **Подпись д.м.н., профессора Вартанян Э.В. заверяю:**

ученый секретарь ФГАОУ ВО  
Российский национальный  
исследовательский медицинский  
университет имени Н.И. Пирогова  
Минздрава России  
кандидат медицинских наук,  
доцент



Демина Ольга Михайловна

ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1. Тел.: +7(495)628-44-53 e-mail: [rsmu@rsmu.ru](mailto:rsmu@rsmu.ru)