

Отзыв

на автореферат диссертации

МАКАРОВОЙ НАТАЛЬИ ПЕТРОВНЫ

**«Морфологические и молекулярнобиологические особенности
постовуляторных ооцитов и их роль в преимплантационном развитии
эмбрионов человека»**, представленной к защите на соискание ученой
степени доктора биологических наук по специальностям

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология и

03.03.05 – Биология развития, эмбриология

Актуальность темы исследования. Проблема зачатия и вынашивания является основной в медицине репродукции, поскольку – по разным данным – бесплодие во всех странах мира выявляют почти у 30% супружеских пар. Принято считать, что одним из решений проблемы деторождения может быть использование вспомогательных репродуктивных технологий. Однако эффективное решение этой проблемы может быть основано только на использовании междисциплинарного подхода, который в настоящее время разработан далеко не полностью и нуждается в проведении дополнительных многопараметровых исследований в разных областях биологии развития, эмбриологии, клеточной биологии, цитологии, гистологии, медицине репродукции и клинической эмбриологии, что обуславливает высокую актуальность темы диссертационной работы Н.П.Макаровой.

Проблемы единой системы оценки форм патологии женских гамет, роли их генетических нарушений и полиморфизма в невозможности реализации зачатия, дифференциальной диагностики бесплодия, разработка новых комплексных подходов к его терапии – все это стало предметом исследования и обсуждения в данном исследовании.

Целью работы является установление закономерностей влияния цитофизиологических и молекулярно-биологических особенностей постовуляторных ооцитов на преимплантационное развитие эмбрионов

человека. Круг **задач**, решаемых в работе, включает логично иерархически выстроенный большой комплекс разнохарактерных исследований от анализа распространенности различных типов морфологических изменений женских половых клеток человека и выявления наиболее значимых морфологических нарушений ооцитов, негативно влияющих на формирование зигот человека в условиях *in vitro*, характеристики молекулярно-биологических особенностей эмбрионов человека в условиях культивирования *in vitro* в зависимости от типа морфологических нарушений ооцитов, из которых данные эмбрионы были получены, до установления связи между повреждениями внутриклеточных структур и развитием эмбрионов, включая оценку содержания митохондриальной ДНК в ооцитах с различными типами морфологических изменений и анализ уровней экспрессии генов, отвечающих за процесс хетчинга, в клетках трофэктодермы при культивировании эмбрионов человека и анализ связи обнаруженных феноменов с эффективностью технологии частичного и полного удаления зоны пеллюцида у эмбрионов с различными морфологическими особенностями. Такой уникально широкий и, вместе с тем, четко детализированный с позиций цели исследования взгляд на проблему создает редко встречающуюся в одной работе возможность проведения высокоэффективного исследования.

В работе использован оригинальный комплекс методических приемов от световой и электронной микроскопии до современных молекулярно-генетических исследований, способствующий четкому и последовательному решению поставленных задач.

В диссертации проведена систематизация данных о значимости структурных и функциональных изменений гамет для развития эмбриона от стадии зиготы до процесса высвобождения бластоцисты из блестящей оболочки, что доказывает необходимость морфологической оценки ооцитов для прогнозирования успешного развития эмбриона и наступления беременности. Кроме того, обоснованы критерии оценки морфофункционального состояния постовуляторных ооцитов, что создает

научную основу для оптимизации методов экстракорпорального оплодотворения, применяемых для лечения бесплодия у человека, а также впервые на эмбрионах человека изучена экспрессия мРНК ряда генов, участвующих в процессе спонтанного хетчинга и установлена взаимосвязь уровня их экспрессии с цитофизиологическими особенностями клеток трофобласта и эмбриобласта бластоцист. Получены уникальные данные по применению метода полного удаления зоны пеллюцида, который позволяет увеличить частоту имплантации эмбрионов человека на стадии бластоцисты с качеством трофобласта класса В и ниже.

К наиболее значимым результатам следует отнести доказательство того, что:

- морфологические аномалии женских гамет, выявляемые методами световой микроскопии, сопровождаются снижением числа копий митохондриальной ДНК, дезорганизацией гладкого эндоплазматического ретикулума и нарушением расхождения хромосом в ядрах бластомеров эмбриона;
- морфофункциональное состояние ооцита определяет процессы хетчинга, имплантации бластоцисты и развитие беременности.

Результаты исследования внедрены и используются в практической работе эмбриологов Отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ. Стандартные операционные процедуры работы с половыми клетками и эмбрионами человека в рамках программ лечения бесплодия с помощью экстракорпорального оплодотворения составлены с учетом результатов данного исследования. Материалы, представленные к защите, используются в учебном процессе на кафедре эмбриологии МГУ имени М.В. Ломоносова в цикле «Вспомогательные репродуктивные технологии: клиническая эмбриология» и на базе Научно-образовательного центра вспомогательных репродуктивных технологий имени Фредерика Паулсена ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ в модуле

«Экстракорпоральное оплодотворение: эмбриологический этап». Разработанные автором методы работы с субфертильными гаметами успешно внедрены и применяются в клинической практике при проведении эмбриологического этапа программ лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий.

По результатам исследования разработаны практические рекомендации по использованию предлагаемых критериев оценки ооцитов и созданию условий для их подготовки к участию в оплодотворении *in vitro*.

Сформулированные выводы полностью соответствуют результатам исследования. Большую практическую ценность представляют практические рекомендации по диагностике и дальнейшему ведению беременности.

Диссертационное исследование выполнено на высоком методическом уровне с использованием большого комплекса современных методов. Достаточный объем материала, и его корректная обработка позволили автору в полной мере решить поставленные задачи.

Обоснованность научных положений и выводов не вызывает сомнений. Основные результаты работы достаточно полно освещены в 24 печатных работах, из них 12 – в отечественных (рекомендованных ВАК) и высокорейтинговых зарубежных журналах, таких как *Gynecological Endocrinology* и *Zygote*.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

Диссертационная работа Натальи Петровны Макаровой «Морфологические и молекулярнобиологические особенности постовуляторных ооцитов и их роль в преимплантационном развитии эмбрионов человека» является законченным оригинальным исследованием, обладает существенной научной новизной и большой практической значимостью для решения весьма актуальной в мировой исследовательской и медицинской практике задачи совершенствования методологии и методов экстракорпорального оплодотворения с целью решения проблем бесплодия.

Работа отвечает требованиям п.9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, 28.08.2017 г. №1024 01.10.2018 №1168), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Наталья Петровна Макарова заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология, 03.03.05 – Биология развития, эмбриология.

Зав. лабораторией генетической
токсикологии с группой
цитогистологии ФГБУ «Центр
стратегического планирования и
управления медико-биологическими
рисками» МЗ РФ д.б.н.
(специальность 14.00.07 – Гигиена,
03.00.15. – Генетика)



Ингель Фаина Исааковна

Адрес: 119121, г. Москва, ул.
Погодинская 10, стр.1
Тел.+7(499)246-48-13
e-MAIL: fainaingel@mail.ru

Подпись руки д.б.н. Ингель Фаины Исааковны заверяю
Ученый секретарь ФГБУ «ЦСП» Минздрава России,
к.б.н. Мария Александровна Волянова

22 апреля 2019 года

