

ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Макаровой Натальи Петровны
«Морфологические и молекулярно-биологические особенности постовуляторных
ооцитов и их роль в преимплантационном развитии эмбрионов человека»
представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по
специальностям 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология; 03.03.05 –
биология развития, эмбриология

Актуальность проблемы

Диссертационная работа Н.П. Макаровой касается важной и интересной проблемы, которая связана с все более широкой востребованностью и применением методов ЭКО. Известно, что технологии ЭКО применяются, как правило, в тех случаях, когда есть физиологические проблемы репродуктивного характера как минимум у одного из будущих родителей – это возраст, врожденные или приобретенные заболевания, влияние образа жизни и экологических факторов, и многое другое, что, возможно, мы даже пока не можем оценить. Вместе с тем, по очевидным причинам, ооциты человека оставались, и к сожалению, остаются малоизученными клетками вследствие недоступности этого материала для регулярных и полноценных исследований. Поэтому актуальность работы, которая посвящена оценке цитофизиологического состояния женских половых клеток и влиянии на пост-имплантационное развитие эмбрионов, является очевидной. Сразу хотелось бы отметить тот факт, что работа выполнена на материале человека с соблюдением всех международных правил и этических стандартов, что безусловно, ставит ее в один ряд с исследованиями мирового уровня.

Научная новизна

Автор представленного исследования провела комплексную оценку влияния цитоплазматических и экстрацитоплазматических нарушений ооцитов человека на раннее доимплантационное развитие эмбриона. Впервые было исследовано число копий мтДНК в ооцитах с различными типами морфологических изменений, представлены уникальные данные о взаимосвязи между числом копий мтДНК и аномалиями зрелой женской половой клетки, прослежена взаимосвязь частоты анеуплоидии в ядрах бластомеров эмбрионов и морфологических изменений ооцитов, из которых данные эмбрионы были получены. Установлены ультраструктурные изменения в цитоплазме зрелых постовуляторных ооцитов, которые следует учитывать

при экстракорпоральном оплодотворении и культивировании эмбрионов человека. Кроме этого, впервые на эмбрионах человека изучена экспрессия мРНК генов, участвующих в процессе спонтанного хетчинга (ген катепсина L2, экспрессирующийся в клетках трофобласта и эмбриобласта – *CTSL2*; ген семейства транскрипционных факторов, участвующий в бластуляции – *GATA3* и β -субъединица хорионического гонадотропина – *CGB*), и установлена взаимосвязь уровня их экспрессии с цитофизиологическими особенностями клеток трофобласта и эмбриобласта бластоцист. Эти данные могут быть использованы для оценки качества и жизнеспособности постовуляторных ооцитов с целью прогнозирования имплантационного потенциала полученного эмбриона.

Теоретическая и практическая значимость

В работе было проведено последовательное и детальное изучение параметров оплодотворения и раннего эмбриогенеза ооцитов с определенными морфологическими нарушениями; определение числа копий митохондриальной ДНК в ооцитах с различными морфологическими аномалиями; оценка анеуплоидии эмбрионов, полученных из ооцитов с выявленными морфологическими нарушениями; электронно-микроскопическое изучение ооцитов с нарушением морфологии цитоплазмы; влияния морфологических особенностей ооцитов на процесс выхода эмбрионов из блестящей оболочки в условиях *in vitro*; молекулярно-генетических маркеров разрыва блестящей оболочки и качества эмбрионов; связи между наличием блестящей оболочки ооцита и имплантационным потенциалом бластоцисты.

Исходя из полученных данных, в работе четко обоснована необходимость и значимость морфологической оценки женских гамет для успешного развития эмбриона человека в доимплантационном периоде. Показано, что цитоплазматические типы нарушений женских половых клеток следует учитывать на всех этапах доимплантационного развития эмбриона для увеличения частоты развития беременности в программах лечения бесплодия методами экстракорпорального оплодотворения.

Автореферат в полном объеме отражает результаты исследования. Выводы также отражают суть работы, хотя их можно было бы немного сократить, и особо хотелось бы отметить лаконичное и емкое заключение, которое обобщает полученные данные. По теме диссертации опубликовано 24 работы, 12 из которых - статьи в журналах входящих в перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание

ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук. Материалы диссертации доложены на всероссийских и международных конференциях.

По тексту автореферата имеется ряд замечаний, которые хотелось бы отметить:

- 1) В тексте есть фраза: «Также на ультраструктурном уровне были обнаружены элементы экзоцитоза» - из иллюстративного материала, представленного в автореферате, не совсем ясно, что имеется в виду.
- 2) Также автор пишет: «Наблюдаемые ультраструктурные деформации цитоплазмы ооцита в области гранулярности могут отражать деструктивные процессы, связанные с начавшимся апоптозом клетки» - также непонятно, что имеется в виду.
- 3) Еще один вопрос касается интерпретации изображений, демонстрирующих процессы протекающие на ультраструктурном уровне. Автор описывает изменения состояния митохондрий, их расположения вблизи и даже в контакте с элементами гладкого ЭПР, но не дает объяснений наблюдаемым картинам. Вместе с тем, эти изображения демонстрируют морфологические проявления митофагии – селективной аутофагии мелких и фрагментированных митохондрий с конденсированным матриксом, и вероятно, не функционирующих. На фотографиях отчетливо видны разные стадии формирования фагофора вокруг отдельных и собранных в кластеры митохондрий, аутофагосомы с митохондриями внутри, и кроме этого, есть признаки микроаутофагии – поглощения митохондрий лизосомами. Из этого следует, что нарушенные или поврежденные митохондрии могут подвергаться деградации с помощью митотофагии, и эти процессы следует изучать в дальнейшем для того, чтобы установить их роль в контроле «качества» ооцитов.

Хотелось бы подчеркнуть, что приведенные выше замечания не носят принципиального характера не влияют качество проведенного исследования и достоверность полученных данных.

Таким образом, диссертационная работа Н.П. Макаровой «Морфологические и молекулярно-биологические особенности постовуляторных ооцитов и их роль в преимплантационном развитии эмбрионов человека» представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология; 03.03.05 – биология развития, эмбриология, является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны практические и теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как крупное достижение в области комплексной

оценки влияния цитоплазматических и экстрацитоплазматических форм нарушений ооцитов человека на раннее доимплантационное развитие эмбриона.

По актуальности, новизне, научному и методическому уровню, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Натальи Петровны Макаровой соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, в ред. Постановления Правительства РФ от 24.04.2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения ей ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология; 03.03.05 – биология развития, эмбриология.

Дата

Заведующий лабораторией клеточной биологии ФГБНУ ВНИИСБ

Д.б.н.

Е.А. Смирнова

Данные об авторе:

Смирнова Елена Александровна - доктор биологических наук по специальности 03.03.04 – «клеточная биология, цитология, гистология», заведующий лабораторией клеточной биологии ФГБНУ ВНИИСБ

Эл. почта: kinggobi@yandex.ru

Телефон: +7 905 7110318

Почтовый адрес: ФГБНУ ВНИИСБ ул. Тимирязевская 42, Москва, Россия, 127550

Подпись Смирновой Е.А. заверяю
Ученый секретарь ФГБНУ ВНИИСБ
Федина Е.И.

