

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д001.004.01 НА БАЗЕ  
ФГБНУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ  
ЧЕЛОВЕКА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 23 мая 2019г. протокол № 6  
о присуждении Макаровой Наталье Петровне, гражданке Российской  
Федерации ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Морфологические и молекулярно-биологические  
особенности постовуляторных ооцитов и их роль в преимплантационном  
развитии эмбрионов человека по специальностям 03.03.04 – клеточная  
биология, цитология, гистология и 03.03.05 – биология развития,  
эмбриология принята к защите 21 февраля 2019 г., протокол №1  
диссертационным советом Д 001.004.01 на базе Федерального  
государственного бюджетного научного учреждения «Научно-  
исследовательский институт морфологии человека» (117418 г.Москва,  
ул.Цюрупы, д.3), сайт организации [www.morfolhum.ru](http://www.morfolhum.ru), созданном в  
соответствии с приказом Минобрнауки России №105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Макарова Наталья Петровна 1981 года рождения. В 2004  
году с отличием окончила факультет теоретической и экспериментальной  
физики (специальность «Медицинская физика») Московского  
государственного инженерно-физического института (МИФИ, Москва). В  
2006 году защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук на тему: «Анализ нарушений сперматогенеза при  
действии новых наносомальных форм доксорубицина и низкоинтенсивного  
лазерного излучения» по специальности гистология, цитология, клеточная  
биология в диссертационном совете, созданном на базе Федерального  
государственного бюджетного научного учреждения «Научно-  
исследовательский институт морфологии человека». В настоящий момент  
работает в должности старшего научного сотрудника Отделения  
вспомогательных технологий в лечении бесплодия Федерального

государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

Диссертационное исследование выполнено в Отделении вспомогательных технологий в лечении бесплодия Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Научный консультант – Курило Любовь Федоровна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории генетики нарушений репродукции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр».

**Официальные оппоненты:**

1. Погорелов Александр Григорьевич, профессор, доктор биологических наук, заведующий лабораторией функциональной микроскопии биоструктур Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» Российской академии наук;
2. Шурыгина Оксана Викторовна, профессор кафедры гистологии и эмбриологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, доцент;
3. Лебедева Ирина Юрьевна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией биологических проблем репродукции животных отдела биотехнологии и молекулярной диагностики животных Федерального научного центра животноводства - ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста дали положительные отзывы на диссертационное исследование.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О.Отта» дала положительное

заключение, подписанное ведущим научным сотрудником отдела иммунологии и межклеточных взаимодействий, доктором биологических наук Павловым Олегом Владимировичем и заведующим отделением вспомогательных репродуктивных технологий, доктором медицинских наук, профессором Гзгзяном Александром Мкртичевичем, в котором указано, что диссертация Макаровой Натальи Петровны соответствует требованиям пп.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 №842 в редакции от 28.08.2017 №1024, 01.10.2018 №1168), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология» и 03.03.05 – «Биология развития, эмбриология», а сам автор заслуживает присвоения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология и 03.03.05 – биология развития, эмбриология.

Соискатель имеет 24 опубликованные научные работы, в том числе 12 статей в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, 12 — материалы российских и зарубежных конференций. Публикации, написанные в соавторстве — 24, из них соискатель является первым автором — 5, общий объем публикаций — 109 страниц.

Наиболее значимые работы:

1. Шафеи Р.А., Сыркашева А.Г., Романов А.Ю., Макарова Н.П., Долгушина Н.В., Семёнова М.Л. Хетчинг бластоциты человека // Онтогенез. 2017. Т. 48. № 1. С. 8-20.
2. Сыркашева А.Г., Красный А.М., Майорова Т.Д., Макарова Н.П., Долгушина Н.В. Изучение числа копий митохондриальной ДНК в ооцитах человека с различными морфологическими аномалиями // Молекулярная медицина. 2016. Т. 14. № 5. С. 37-41.

3. Ковальская Е.В., Макарова Н.П., Сыркашева А.Г., Долгушина Н.В., Курило Л.Ф. Механизм формирования агрегатов гладкого эндоплазматического ретикулума в цитоплазме ооцитов в циклах вспомогательных репродуктивных технологий и его клиническое значение // Цитология. 2015. Т. 57. № 2. С. 129-134.
4. Макарова Н.П., Казарян Л.М., Калинина Е.А., Баранова Г.Б., Поляков В.Ю. Грубозернистая деструкция цитоплазмы ооцитов в цикле экстракорпорального оплодотворения: ультраструктурный анализ // Акушерство и гинекология. 2012. № 8-2. С. 103-106.
5. Syrkasheva A.G., Dolgushina N.V., Romanov A.Yu., Burmenskaya O.V., Makarova N.P., Ibragimova E.O., Kalinina E.A., Sukhikh G.T. Cell and genetic predictors of human blastocyst hatching success in assisted reproduction // Zygote. 2017. T.9. P.1-6.
6. Dolgushina N.V., Syrkasheva A.G., Makarova N.P., Kovalskaya E.V., Kalinina E.A., Sukhikh G.T. Correlation between oocyte morphology and the embryo aneuploidy rate in IVF cycles // Gynecological Endocrinology. 2015. Т. 31. Р. 61-64.

Недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в работе отсутствуют.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы от следующих специалистов: доктор биологических наук, профессора, заведующей лабораторией цитогенетики Федерального государственного учреждения науки «Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова» Российской академии наук Коломиец О.Л. , доктора биологических наук старшего научного сотрудника Отдела электронной микроскопии Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Брагиной Е.Е., доктора биологических наук, заведующей лабораторией генетической токсикологии с группой

цитогистологии ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками» МЗ РФ Ингель Ф.И., доктора биологических наук, заведующей лабораторией клеточной биологии ФГБНУ ВНИИСБ Смирновой Е. А., доктора биологических наук, заведующей отделом экспериментальной эмбриологии ФГБНУ «Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий» Маленко Г. П., кандидата медицинских наук руководителя лабораторией молекулярной диагностики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ Скрябина Н.А.

Критических замечаний в отзывах по представленному диссертационному исследованию нет. Отзывы содержат информацию об актуальности настоящей работы, новизне полученных результатов и значимости их для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа выполнена в полном объеме на высоком методическом уровне, выводы диссертации достоверны и полностью отражают поставленные задачи. В отзывах предложены дальнейшие пути совместных исследований женских половых клеток и эмбрионов человека.

Выбор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О.Отта» в качестве ведущей организации обусловлен тем, что в институте проводятся исследования, которые касаются изучения особенностей женских и мужских половых клеток при различных типах бесплодия у человека, а также совершенствования методов культивирования эмбрионов человека при вспомогательных репродуктивных технологиях.

Выбор оппонентов обоснован тем, что: 1. Погорелов Александр Григорьевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией функциональной микроскопии биоструктур Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» Российской академии наук, является автором публикаций в области изучения влияния компенсаторного ответа на

гипотонический стресс у ооцита мыши *in vitro*, особенностей культивирования ранних эмбрионов млекопитающих; 2. Шурыгина Оксана Викторовна, профессор кафедры гистологии и эмбриологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, доцент является одним из ведущих специалистов в области клинической эмбриологии человека, занимается вопросами прижизненной оценки эмбрионов человека; 3. Лебедева Ирина Юрьевна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией биологических проблем репродукции животных отдела биотехнологии и молекулярной диагностики животных Федерального научного центра животноводства - ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста, основные ее публикации посвящены морфофункциональным изменениям в стареющих яйцеклетках крупного рогатого скота при различных типах культивирования *in vitro*, а также способности ооцитов коров к эмбриональному развитию при различных воздействиях.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: разработана новая научная концепция о влиянии морфологических изменений постовуляторных ооцитов на все этапы развития эмбриона человека — от оплодотворения до высвобождения из блестящей оболочки; охарактеризованы морфофункциональные особенности различных типов постовуляторных ооцитов; продемонстрированы молекулярно-биологические особенности женских половых клеток при оплодотворении в условиях *in vitro* и их влияние на развитие эмбриона человека, в том числе на выход бластоцист из блестящей оболочки; показано, что группой риска для формирования эмбрионов с хромосомными аномалиями являются ооциты с морфологическими изменениями цитоплазмы (появление гранулярности, вакуолей, гипертроированных агрегатов гладкого эндоплазматического ретикулума); доказано, что цитоплазматические изменения, регистрируемые на световом уровне, затрагивают субклеточный уровень — нарушения строения**

внутриклеточных структур (набухание и атрезию митохондрий, гипертрофию цистерн гладкого эндоплазматического ретикулума, неравномерное распределение органелл внутри цитоплазмы). **Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны следующие положения:** экстрацитоплазматические нарушения морфологии постовуляторных ооцитов не влияют на результаты оплодотворения, дробления и бластуляции эмбрионов человека в условиях *in vitro*. Морфологические нарушения цитоплазмы женских половых клеток человека — гранулярность, агрегаты гладкого эндоплазматического ретикулума, вакуоли — снижают частоту оплодотворения, увеличивают частоту фрагментации на стадии деления дробления, снижают возможность самостоятельного высвобождения бластоцисты из блестящей оболочки. Нарушения цитоплазматических структур ооцитов человека повышают риск неравномерного расхождения хромосом на стадии дробления эмбриона, вызывая анеуплоидию. Гранулярность цитоплазмы является наиболее тяжелым морфологическим повреждением ооцита человека, которая связана со снижением числа копий мtДНК и нарушениями в ультраструктурной организации ооцита. Процесс естественного хетчинга бластоцист человека в условиях *in vitro* зависит от уровня экспрессии мРНК генов CTS2, GATA3 и CGB, максимальная экспрессия которых выявлена в бластоцистах с качеством трофэктомидермы класса А. Естественный хетчинг не зависит от качества клеток внутренней клеточной массы. **Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов** изучения постовуляторных женских половых клеток и эмбрионов человека с соблюдением всех принятых международных этико-биологических норм и правил. В работе использованы современные методы исследования — морфометрические, молекулярные, световая и электронная микроскопия, метод гибридизации *in situ*, ПЦР, методы статистической обработки данных. **Изложены доказательства** необходимости применения индивидуального культивирования постовуляторных женских половых клеток в зависимости от их морфологических особенностей, использования методов генетического

тестирования эмбрионов человека в зависимости от качества ооцитов.

**Представлены доказательства целесообразности применения вспомогательного хетчинга для улучшения имплантации бластоцист в полости матки в программах экстракорпорального оплодотворения.**

**Установлены** закономерности влияния цитофизиологических и молекулярно-биологических особенностей постовуляторных ооцитов на преимплантационное развитие эмбрионов человека. Полученные в диссертационном исследовании результаты способствуют пониманию фундаментальных механизмов регуляции созревания женской половой клетки, формирования ее способности к оплодотворению и влияния на последующее развитие эмбриона. Морфологические аномалии женских гамет, выявляемые на светооптическом уровне, сопровождаются снижением числа копий митохондриальной ДНК, дезорганизацией гладкого эндоплазматического ретикулума, нарушением расхождения хромосом в ядрах бластомеров эмбриона и особенностями экспрессии генов.

**Обнаружено**, что морффункциональное состояние ооцита определяет также и процессы хетчинга, имплантации бластоцисты и развитие беременности.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем**, что результаты могут быть использованы в дальнейших научных изысканиях и клинической практике, так как представленные в диссертации данные являются фундаментальными и расширяют имеющиеся знания о женских постовуляторных ооцитах человека, а также способствуют лучшему пониманию общих закономерностей развития эмбриона человека в условиях *in vitro*. На основании полученных результатов могут быть разработаны практические рекомендации для клинической практики по индивидуальному культивированию, оплодотворению и переносу в полость матки эмбрионов человека, полученных из ооцитов с различными морфологическими изменениями. **Оценка достоверности результатов работы** выявила, что обоснованность научных положений и выводов подтверждена объективными данными. Результаты получены на современном сертифицированном

оборудовании. Для решения поставленных задач автором был использован комплекс адекватных методов исследования. Большой объем проанализированных постовуляторных женских половых клеток и эмбрионов человека, использование адекватных цели и задачам современных методов исследования с соблюдением этико-биологических норм и правил, и корректная статистическая обработка полученных данных определяют высокую достоверность выводов и положений. **Теория** построена на фрагментарных литературных данных о морфологических особенностях женских половых клеток, которые не дают комплексного систематизированного представления о влиянии этих изменений на каждый этап процесса развития эмбриона человека: от оплодотворения до стадии бластоцисты. **Идея исследования** базируется на анализе литературных данных о влиянии морффункциональных особенностей постовуляторных ооцитов на эмбриологический этап и частоту наступления беременностей в программах лечения бесплодиями методами вспомогательных репродуктивных технологий. **Использовано сравнение** собственных результатов и данных, полученных ранее другими исследователями по морффункциональным особенностям женских половых клеток человека в программах экстракорпорального оплодотворения, а также по факторам, влияющим на выход бластоцисты человека из блестящей оболочки на 5-6 дни культивирования. **Установлено** совпадение с данными литературы части полученных результатов о влиянии цитоплазматических форм аномалий постовуляторных ооцитов человека на развитие эмбрионов, а также частота естественного хетчинга бластоцист человека в условиях *in vitro*, однако обоснование и интерпретация полученных результатов приведена впервые. **Использованы** представительные выборки наблюдений, что позволило детально охарактеризовать влияние морффункциональных особенностей ооцитов человека на каждый этап доимплантационного развития полученных эмбрионов, а также выделить их особенности, наблюдаемые при культивировании в условиях *in vitro*.

**Личный вклад соискателя** состоит в планировании исследования,

постановке цели и задач, проведении исследования, анализе результатов и адекватной их статистической обработке, а также обобщении и сравнении их с данными современной литературы, подготовке научных публикаций.

На заседании 23 мая 2019 г диссертационный совет принял решение присудить Макаровой Наталье Петровне ученую степень доктора биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 5 докторов наук по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология, гистология (биологические науки) и 5 докторов наук по специальности 03.03.05 биология развития, эмбриология, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, из них 5 человек дополнительно введены на разовую защиту, проголосовали: за присуждение учёной степени - 20, против присуждения учёной степени - 0, недействительных бюллетеней - 0 .

Председатель диссертационного совета Д001.004.01

член-корр РАН



transferred

Л.В. Кактурский

Ученый секретарь диссертационного совета Д001.004.01

Д.М.

100

《24》 三九

2019 F

Л.П. Михайлова