

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Томский национальный
исследовательский медицинский
центр Российской академии наук»

доктор биологических наук,
профессор,

член-корреспондент РАН

В.А. Степанов

2021 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» о научно-практической значимости диссертации Рагаевой Дианы Сергеевны «Влияние вспомогательных репродуктивных технологий на постнатальный онтогенез гипертензивных крыс линии НИСАГ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология (биологические науки)

Актуальность темы выполненной работы

Кандидатская диссертация Д.С. Рагаевой посвящена анализу изменений в постнатальном онтогенезе гипертензивных крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией (линия НИСАГ) в результате применения к этой модели вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), таких как культивирование ранних эмбрионов *in vitro* и эмбриотрансфер. ВРТ широко распространены в современной медицине, но отдаленные последствия их применения у взрослых потомков изучены недостаточно. При этом в литературе отмечено повышение частоты изменений в сердечно-сосудистой системе потомков, рожденных с применением ВРТ. Однако на текущий момент нет однозначного ответа на вопрос, является ли это эффектом от применения ВРТ или следствием бесплодия и возраста родителей. Услуги клиник репродуктивной медицины чрезвычайно востребованы и доступны для всех категорий населения, в том числе групп людей, страдающих хроническими заболеваниями. Наличие подтвержденного диагноза «гипертоническая болезнь» при условии ее контроля не являются основанием для отказа в

медицинской помощи в центрах ВРТ. При этом, риски, обусловленные наличием предшествующего заболевания у таких пациентов, при применении ВРТ могут повышаться. Вместе с тем, эта область исследований до настоящего времени остается недостаточно разработанной.

В настоящее время в клинической практике для отбора наиболее перспективного эмбриона на перенос применяют метод культивирования преимплантационных эмбрионов в искусственных питательных средах до стадии бластоцисты. Неисследованным остается влияние на постнатальный онтогенез сердечно-сосудистой системы условий культивирования эмбрионов и эмбриотрансфера. По этой причине экспериментальное исследование влияния культивирования *in vitro* и других ВРТ на онтогенез и фенотипические характеристики потомства в постнатальный период является крайне актуальным для физиологии и медицины. Кроме того, до сих пор не выполнено ни одной работы по исследованию отдаленных эффектов культивирования *in vitro* в различных условиях ранних эмбрионов, полученных от родителей с генетической предрасположенностью к гипертензии.

Рагаевой Д.С. впервые проведено такого рода исследование. Уникальность работы заключается в сочетании репродуктивных технологий и гипертонической модели на крысах, а также в том, что основная часть сравниваемых параметров была изучена у взрослых потомков, таким образом, были выявлены отдаленные эффекты применения *in vitro* технологий, а не только их влияние на репродуктивные исходы. Автор работы поставил перед собой актуальную задачу – выявить влияние модификации условий культивирования эмбрионов на преимплантационной стадии развития *in vitro* на проявление гипертензивного статуса потомков.

Все вышеизложенное дает основание утверждать, что исследование взаимосвязи между ВРТ и гипертензивным статусом потомства является актуальной современной задачей, как с теоретической, так и с практической точек зрения, а полученные автором результаты представляют не только теоретический интерес, но и существенно важны для медицины.

Таким образом, работа Д.С. Рагаевой с одной стороны, является уникальной, так как впервые изучено влияние современных репродуктивных технологий, применяемых в медицине, на проявление генетически обусловленной гипертензии, а с другой стороны, направлено на изучение гипертензивного фенотипа крыс НИСАГ, в том числе и тех аспектов, которые ранее не были исследованы.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна результатов и основных выводов диссертационной работы состоит в том, что впервые было получено и исследовано живое потомство в результате культивирования *in vitro* и последующего переноса эмбрионов крыс линии НИСАГ. У родившихся после воздействий потомков был проведен сравнительный анализ ряда физиологических и поведенческих параметров, в результате которого впервые было установлено, что фенотип таких потомков сильно изменен, в частности, локомоторная и исследовательская активности в условиях новой обстановки снижены.

Впервые было исследовано влияние культивирования эмбрионов крыс линии НИСАГ *in vitro* на их гипертензивный статус во взрослом состоянии – было обнаружено значительное снижение величин артериального давления в сравнении с крысами, родившимися без применения репродуктивных технологий, а также контрольными крысами, рожденными в результате переноса эмбрионов без этапа их культивирования *in vitro*.

Впервые были исследованы крысы НИСАГ во время беременности, при этом было обнаружено снижение систолического артериального давления (сАД) ближе к окончанию срока беременности.

Личный вклад автора

Аналитический обзор литературы, дизайн исследования, формулирование цели и задач диссертационной работы, выполнение экспериментальных исследований, обработка, анализ и интерпретация полученных результатов, апробация результатов исследования, подготовка научных публикаций, докладов на научных конференциях по материалам диссертационной работы, методический подход к их выполнению, разработаны и выполнены лично автором.

Обоснованность использованных методов исследования и достоверность положений диссертации

Достоверность полученных результатов и сформулированных автором выводов подтверждаются использованием в работе современных физиологических методов. Используемые в работе методологические и методические подходы логичны и соответствуют цели и задачам диссертационной работы. Работа была выполнена на животных *specific pathogen free* (SPF) статуса, полученных на базе нового вивария (SPF-вивария) ИЦиГ СО РАН, в котором поддерживаются современные международные стандарты работы с экспериментальными животными.

Применены адекватные поставленным задачам хирургические, цитологические, физиологические методики. Полученные в работе результаты обоснованы достаточным объемом экспериментального материала, использованием корректных методов статистического анализа данных. Достоверность положений и выводов основана на логичном обобщении установленных фактов.

Основные результаты и положения представлены на российских и международных конференциях. По теме диссертации имеется достаточное число печатных работ в международных журналах и журналах из перечня ВАК, таких, как *Physiology & Behavior*, *Hypertension in Pregnancy*, *Онтогенез*, *Успехи Физиологических Наук*, в которых представлены все основные результаты, полученные Д.С. Рагаевой.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов и положений диссертации

Теоретическая значимость работы представлена полученными фундаментальными знаниями о влиянии применения различных режимов культивирования эмбрионов при ВРТ у крыс НИСАГ физиологические параметры потомства. Важным результатом, который имеет как теоретическую, так и практическую ценность, является то, что при определенных условиях культивирования *in vitro* эмбрионов крыс с генетически обусловленной артериальной гипертензией, артериальное давление потомков, полученных путем эмбриотрансфера из таких эмбрионов существенно снижено. Таким образом полученные в работе результаты показывают принципиальную возможность влиять на генетически обусловленную гипертензию с использованием *in vitro* технологий и могут быть использованы для проведения последующих исследований у женщин, которым применяют ВРТ на фоне АГ.

Практическая ценность работы заключается в том, что полученный в работе результат об изменении гипертензивного статуса потомков в ходе применения определенного режима культивирования эмбрионов крыс линии НИСАГ имеет большую значимость для ведения данной линии, так как способствует более полной характеристике крыс НИСАГ как модели артериальной гипертензии, и может быть использован для предупреждения возможной потери указанного гипертензивного статуса в результате изменения условий среды при применении ВРТ.

Структура диссертации, оценка ее содержания и завершенности в целом

Диссертация Рагаевой Д.С. построена по классической схеме, состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 102 страницах, иллюстрирована 18 рисунками и 3 таблицами. Список литературы включает 293 источника, из них 38 отечественных и 255 зарубежных.

Представленный обзор литературы подробно описывает современное состояние проблемы, он информативен и интересен. Убедительно обоснована необходимость проведения исследований фундаментальных аспектов гипертензии на модели крыс НИСАГ.

В разделе «материалы и методы» подробно описан дизайн эксперимента и детально разобраны все применяющиеся методики. Ясно представлена схема исследования животных до спаривания, технологии подготовки и проведения ВРТ, исследования беременных самок, методы постнатального обследования потомства. Подробным образом представлены методики гистологического анализа, исследования физиологической, поведенческих функций, нефрогенеза.

Результаты исследования достаточно подробно описаны, хорошо иллюстрированы и полно отражают основные экспериментальные находки проведенных исследований. В подглаве 3.1. представлены результаты сопоставления физиологических, репродуктивных, неврологических, поведенческих характеристик и особенностей неонатального развития крыс линий НИСАГ и WAG. Подглава 3.2 представляет данные о динамике артериального давления крыс линии НИСАГ и его влиянии на репродуктивную функцию. Третья подглава раздела «Результаты исследования» представляет наибольший интерес и содержит результаты, показывающие влияние применения репродуктивных технологий, в том числе включающие культивирование эмбрионов и эмбриотрансфер, на фенотип взрослых потомков крыс НИСАГ: артериальное давление, поведение и морфологию гиппокампа и префронтальной коры.

В обсуждении автор проводит анализ собственных результатов, сопоставляя их с данными из научной литературы и дает сжатую оценку результатов. В аналитической форме подведены итоги проведенного исследования, систематизированы и обоснованы наиболее значимые результаты работы, а также обозначены перспективные направления изучения данной проблемы. Выводы, практические рекомендации, научные положения, выдвинутые автором, вытекают из существа изложенного

материала, подтверждены результатами, полученными в ходе исследования, являются кратким итогом работы.

Автореферат полностью отражает основные положения диссертации, написан четко и логично, хорошо иллюстрирован.

Диссертационное исследование изложено четко, последовательно, логично, обнаруживает высокий профессиональный уровень автора, глубокое знание данных литературы.

Принципиальных замечаний, влияющих на положительную оценку диссертационной работы, нет.

Имеются следующие вопросы дискуссионного характера:

1. Как вам видится собственная гипотеза о механизме влияния изменения условий ВРТ на гипертензивный статус, поведенческие характеристики потомков у крыс линии НИСАГ?

2. Какие, на Ваш взгляд, могут быть направления и механизмы дальнейшей трансляции полученных в работе результатов в клиническую практику?

Рекомендации по использованию и внедрению результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационной работы могут быть использованы для разработки новых подходов к культивированию эмбрионов при применении ВРТ у пациенток с гипертонической болезнью.

Материалы диссертационной работы могут быть включены в курс лекций и практических занятий по патологической и нормальной физиологии для студентов медико-биологических специальностей, ординаторов по специальностям физиология, патологическая физиология, гинекология.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

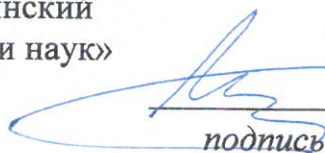
Диссертационная работа Рагаевой Дианы Сергеевны «Влияние вспомогательных репродуктивных технологий на постнатальный онтогенез гипертензивных крыс линии НИСАГ», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, является самостоятельной и законченной научно-квалифицированной работой, в которой решается актуальная научная задача по физиологии – анализ влияния инкубационной среды при культивировании эмбрионов крыс линии НИСАГ на проявление в последствии гипертензивного фенотипа.

Работа выполнена на современном методическом уровне. По своей актуальности, достоверности результатов, обоснованности выводов и

научно-практической значимости диссертация Рагаевой Д.С. полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (ред. от 20.03.2021) предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор Рагаева Диана Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология (биологические науки).

Отзыв обсужден и одобрен на совместном заседании лаборатории экспериментальной кардиологии и лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики НИИ кардиологии Томского НИМЦ, протокол № 46 от 30 августа 2021 г.

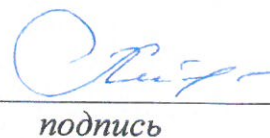
Заведующий лабораторией
экспериментальной кардиологии
Научно-исследовательского
института кардиологии
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Томский национальный
исследовательский медицинский
центр Российской академии наук»
доктор медицинских наук



подпись

Маслов Леонид
Николаевич

Подпись Маслова Л.Н. заверяю.
Ученый секретарь Томского НИМЦ
кандидат биологических наук
Ирина Юрьевна Хитринская



подпись

06.09.2021
дата