

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

**доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой
патологической анатомии учреждения образования «Гродненский
государственный медицинский университет»**

Басинского Виктора Анатольевича

**на диссертацию Мотолянца Павла Михайловича «Морфологическая
характеристика гранулезных клеток яичников пациенток с бесплодием
при проведении экстракорпорального оплодотворения»,
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских
наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия в совет по
защите диссертаций Д 03.18.03 при учреждении образования
«Белорусский государственный медицинский университет»**

**Соответствие диссертации специальностям и отрасли науки, по
которым она представлена к защите**

Диссертация Мотолянца Павла Михайловича «Морфологическая характеристика гранулезных клеток яичников пациенток с бесплодием при проведении экстракорпорального оплодотворения» по цели, задачам, содержанию, объекту (клетки человека, исследуемые прижизненно) и методам исследования (световая микроскопия, иммуногистохимия, морфометрия), полученным результатам и положениям, выносимым на защиту, соответствует специальности 14.03.02 – патологическая анатомия и отрасли 14.00.00 – «Медицинские науки».

Актуальность темы диссертации

Проблема бесплодия крайне актуальна как в мировом масштабе, так и в Республике Беларусь. По данным национальной статистики уровень бесплодия супружеских пар в Беларуси сохраняется на уровне 14 процентов. Вместе с тем в 2020–2024 годы число женщин репродуктивного возраста, страдающих бесплодием, возросло более чем на 30%.

В соответствии с Указом Президента Республики Беларусь от 18 мая 2020 г. № 171 «О социальной поддержке отдельных категорий граждан» государством гарантировано предоставление одной бесплатной попытки экстракорпорального оплодотворения в государственных организациях здравоохранения. За 4 года действия данной программы поддержки супружеских пар, страдающих бесплодием, проведено более 6000 полных циклов ЭКО, а эффективность программы составила около 40%. Несмотря на достижения репродуктивной медицины, до 25-43% женщин, вступающих в программу ЭКО не достигают беременности и возникает необходимость в проведении повторных циклов. В данной ситуации требуются надежные методы оценки репродуктивной функции женщин для прогнозирования эффективности последующих попыток ЭКО.

В структуре причин бесплодия одна из ведущих позиций принадлежит овариальному фактору. Результаты многих работ указывают на зависимость яйцеклетки от состояния ее клеточного (гранулезные клетки) и биохимического (фолликулярная жидкость) окружения, которое обеспечивает рост и питание ооцита, передачу сигналов. Известно, что изменения состава фолликулярной жидкости и состояния гранулезных клеток могут быть связаны с качеством ооцитов, эмбрионов и исходами ЭКО.

В клинической практике широко применяются лабораторные и инструментальные методы для оценки функции яичников. Исследования, связанные с фолликулярной жидкостью и гранулезными клетками, сосредоточены на биохимических и молекулярно-генетических методах. Морфологический подход для изучения окружения ооцитов не нашел широкого применения как среди ученых, так и клиницистов.

Однако современные морфологические методы позволяют оценивать не только структурные, но и рецепторные характеристики клеток благодаря возможностям иммуногистохимии. Результаты экспериментальных работ указывают на связь состояния рецепторов половых гормонов в гранулезных клетках с нарушениями репродукции у животных. Вместе с тем, недостаточно изучено, какие морфологические и гормонорецепторные характеристики гранулезных клеток стимулированных яичников человека ассоциированы с успешной имплантацией эмбриона и могут рассматриваться как потенциальные прогностические признаки. Кроме того, отсутствуют стандартизованные методы визуализации гранулезных клеток.

Представленное в диссертации исследование включает исследование 160 образцов фолликулярной жидкости стимулированных яичников пациенток при проведении ЭКО. Достигнута визуализация гранулезных клеток при подготовке проб методами жидкостной цитологии и клеточных блоков. Выполнены детальная морфологическая оценка гранулезных клеток и иммуногистохимический анализ экспрессии белков FSHR, ER, PR в них с сопоставлением в группах пациенток с наступлением и с отсутствием имплантации эмбриона.

Все вышесказанное свидетельствует об актуальности диссертационной работы Мотолянца П.М., целью которой стало выявление морфологических характеристик гранулезных клеток яичников для прогнозирования успешности имплантации эмбрионов при ЭКО.

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту

Соискателем впервые в Республике Беларусь проведена морфологическая оценка фолликулярной жидкости, полученной при пункции стимулированных яичников. Достигнута визуализация гранулезных клеток с помощью двух методов подготовки фолликулярной жидкости. Продемонстрированы и обоснованы преимущества метода клеточных блоков

Автором определены основные морфологические характеристики гранулезных клеток стимулированных яичников при ЭКО. Новыми являются данные о размерных характеристиках гранулезных клеток: показано, что успешная имплантация эмбриона ассоциирована с меньшей гетерогенностью и большим средним размером ядер гранулезных клеток. Выявленные характеристики отражают преобладание в фолликулах стимулированных яичников при успешной имплантации зрелых и функционально специализированных клеток (внутренних париетальных).

Автором определена разница в экспрессии белков FSHR, ER β , PR в группах с различными исходами ЭКО. Выполненный соискателем сравнительный анализ установил, что при успешной имплантации эмбриона гранулезные клетки стимулированных яичников характеризуются большими интенсивностью и гетерогенностью экспрессии белков FSHR, ER β , PR. Впервые в париетальных гранулезных клетках человека выявлена комбинированная экспрессия белка PR в виде сочетания ядерного и цитоплазматического окрашивания при ИГХ реакции.

Соискателем выделены морфологические и иммуногистохимические предикторы успешной имплантации эмбриона при ЭКО (средним размером ядер гранулезных клеток, экспрессия белков FSHR, ER β) с определением их чувствительности, специфичности и эффективности.

Автором разработана и валидирована математическая модель оценки успешности имплантации эмбриона.

Новизна разработок подтверждена методом иммуноцитоморфологического исследования фолликулярной жидкости, который был апробирован, утвержден и внедрен в практическое здравоохранение РБ.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Сформулированные в диссертационной работе Мотолянца П.М. заключительные выводы и рекомендации соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Они основаны на наблюдении и изучении результатов достаточного количества образцов фолликулярной жидкости от пациенток с бесплодием при проведении ЭКО.

Диссертационное исследование выполнено по результатам морфологического анализа образцов фолликулярной жидкости пациенток с бесплодием, находившихся на лечении в период 2022-2025 гг. в государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»»: 124 пациентки основной группы и 32 пациентки для валидации математической модели В зависимости от исходов ЭКО пациентки основной группы были разделены на две группы: отсутствие имплантации – 61 случай, успешная имплантация – 54 случая.

Иллюстрации микропрепаратов выполняли с использованием цифровой фотокамеры Leica DFC 450C к микроскопу Leica DM2500, а также сканера Motic Easy Scan Pro. Все морфометрические исследования проводили при помощи программы Aperio Image Scope.

В работе использованы современные методы статистической обработки с применением параметрических и непараметрических методов. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ SPSS Statistics 26, Statistica 13.0.

Результаты выполненных исследований и разработанные на их основании практические рекомендации отражены в положениях, выносимых на защиту и в заключительных выводах.

Учитывая объем проведенных автором исследований, соответствующий методологический уровень работы с клиническими наблюдениями и инструментальными методами диагностики, применение современных методов статистического анализа, основные научные результаты, заключение и положения, выносимые на защиту, следует считать достоверными и обоснованными.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию

Автором выполнен анализ образцов фолликулярной жидкости пациенток с бесплодием. Разработан подход к пробоподготовке фолликулярной жидкости и визуализации гранулезных клеток. Определены размерные характеристики гранулезных клеток стимулированных яичников. Исследована экспрессия белков FSHR, ER β и PR в гранулезных клетках.

Выделены предикторы успешной имплантации эмбриона, рассчитаны их пороговые значения, диагностическая чувствительность, специфичность и эффективность. Автор применил многофакторный регрессионный анализ с включением показателей интенсивности экспрессии белков FSHR, ER β и среднего размера ядер гранулезных клеток для повышения диагностической информативности. На основании полученной модели разработан и валидирован метод оценки вероятности наступления имплантации эмбриона при ЭКО, который позволил стандартизировать выбор тактики ведения пациентки и может быть использован врачами-патологоанатомами, врачами клинической лабораторной диагностики и врачами-акушерами-гинекологами.

Практическая значимость результатов диссертации заключается в обосновании использования в клинической практике метода оценки вероятности наступления имплантации эмбриона при ЭКО. Практическая значимость результатов диссертации П.М. Мотолянца подтверждается утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкцией по применению №105–1124 «Метод иммуноцитоморфологического исследования фолликулярной жидкости».

Экономическая и социальная значимость результатов диссертации заключается осуществлении персонифицированного подхода к женщинам позднего репродуктивного возраста в программе ЭКО, что повышает вероятность наступления беременности у данной категории женщин; экономическая эффективность будет заключаться в снижении затрат на выполнение бесплатного ЭКО. Также разработанный метод прогнозирования успешной имплантации эмбриона не требует серьезных финансовых затрат, поскольку основан на применении доступного метода морфологического исследования и может использоваться в патологоанатомических отделениях областных, городских и районных больниц и патологоанатомических бюро.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

Опубликованность результатов научных исследований соответствует требованиям ВАК: 8 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых научных журналах соответствующих пункту 19 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», 2 тезисов докладов на международных, республиканских съездах и конференциях, 1 инструкция по применению, что свидетельствует о достаточной опубликованности основных положений и результатов диссертации. Общий объем публикаций составил (3,82 авторских листа). Полученные научные результаты доложены на множестве международных конгрессов и республиканских научно-практических конференциях.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Диссертационная работа оформлена в соответствии с Постановлением ВАК Республики Беларусь и согласно инструкции по оформлению диссертации, автореферата и публикаций по теме диссертации (Постановление Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 28.02.2014 № 3 (в редакции постановления Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 22.08.2022 № 5). Диссертация изложена на 116 страницах машинописного текста. Работа состоит из традиционных разделов: введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания материала и методов исследования, трех глав с собственными результатами и обсуждением результатов, заключения, библиографического списка, включающего 193 источника и Приложения. Диссертация иллюстрирована 24 рисунками, 28 таблицами.

Рукопись автореферата соответствует содержанию диссертации и включает введение, общую характеристику работы, основное содержание работы, заключение с выводами и практическими рекомендациями, список публикаций соискателя.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени кандидата медицинских наук

Четкое обоснование актуальности темы диссертации, цели и задач исследования, самостоятельно проведенный набор материала, высокий

научно-методический уровень исследований, полученные новые научные данные, их глубокий анализ и формулировка основных положений, оценка морфологических характеристик гранулезных клеток и иммуногистохимической экспрессии белков FSHR, ER β и PR в них позволяют считать, что научная квалификация Мотолянца Павла Михайловича соответствует ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертационная работа Мотолянца Павла Михайловича «Морфологическая характеристика гранулезных клеток яичников пациенток с бесплодием при проведении экстракорпорального оплодотворения» соответствует специальности 14.03.02 – патологическая анатомия – и является самостоятельно выполненным, завершенным, научно-обоснованным, квалификационным исследованием.

Замечания

Работа хорошо иллюстрирована написана грамотным языком, единичные неудачные стилистические обороты, сложные предложения, связаны со спецификой морфологического изучения, а также большим объемом обрабатываемого визуального контента, что было необходимо для доказательств полученных результатов.

Данные замечания нисколько не снижают научную ценность представленной работы и не влияют на результаты работы.

Заключение

Диссертация Мотолянца Павла Михайловича «Морфологическая характеристика гранулезных клеток яичников пациенток с бесплодием при проведении экстракорпорального оплодотворения» по актуальности, объему проведенных исследований, полученным результатам, практической значимости представляет собой законченную, квалификационную, самостоятельно выполненную работу на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Соискатель Мотолянец Павел Михайлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук за:

1. Определение возможностей методов жидкостной цитологии и клеточных блоков в исследовании гранулезных клеток фолликулярной жидкости, полученной при подготовке к ЭКО и обоснование преимущества метода клеточных блоков
2. Выделение морфологических и иммуногистохимических предикторов успешной имплантации эмбриона при ЭКО, на основе размерных характеристик ядер гранулезных клеток, характера экспрессии белков FSHR, ER β с определением их чувствительности, специфичности и эффективности.

3.Разработку и внедрение математическая модели прогнозирования успешности имплантации эмбриона.

Официальный оппонент

заведующий кафедрой патологической

анатомии учреждения образования

«Гродненский государственный

медицинский университет»

доктор медицинских наук, профессор

В.А. Басинский

«14 » октября 2026 года


Подпись Басинского В.А.
Старший инспектор по кадрам отдела кадров
учреждения образования «Гродненский
государственный медицинский университет»
Е.А.Лесикова
20 26.