

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России Потеминной Татьяны Евгеньевны на диссертацию Галимова Камиля Шамилевича «Митохондриальная дисфункция сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия: молекулярные и генетические аспекты» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Актуальность выбранной темы

Диссертация Галимова Камиля Шамилевича посвящена изучению роли митохондриальной дисфункции сперматозоидов в развитии мужского бесплодия. Актуальность выбранной темы обусловлена большим вниманием, уделяемым проблемам демографии и репродуктивного здоровья, а также поиском возможностей прогнозирования детородной функции с позиций молекулярной медицины. Бесплодный брак представляет собой серьезную проблему современного общества. Количество бесплодных браков составляет около 15 %, по причине бесплодия распадаются 9 % семей. По оценкам специалистов, в Европе бесплодны около 10 % супружеских пар, в США – 8-15 %, в России от 8 до 18 %, и в настоящее время нет тенденции к снижению. Примерно в половине случаев бесплодие обусловлено мужским фактором, отмечается дальнейшая тенденция к его увеличению.

Общепринятой процедурой для оценки мужской фертильности является изучение параметров эякулята, куда входят макроскопические, микроскопические, биохимические и функциональные критерии. Оценка показателей спермограммы в значительной степени субъективна, так как зависит не только от характеристик исследуемого образца, но и от степени подготовки лаборантов. В ряде случаев низкая частота зачатия является следствием функциональных аномалий сперматозоидов, не выявляемых при анализе традиционных показателей спермограммы. С другой стороны, стандартные методы диагностики не всегда позволяют судить о причинах

изменения функций сперматозоидов, результаты рутинных исследований эякулята недостаточно надежны с клинической точки зрения, так как в ряде случаев фертильность бывает не нарушена при значительных отклонениях спермограммы от нормы, в то время как бесплодие может наблюдаться у мужчин с нормозооспермией.

Таким образом, можно констатировать, что накопленная к настоящему времени совокупность фактов и гипотез о состоянии репродуктивной системы в норме и в патологии не дает целостной картины патогенеза мужского бесплодия, не позволяет разработать рациональную и эффективную стратегию его преодоления, что предопределяет необходимость выполнения новых фундаментальных работ. Перечисленные выше факторы определяют актуальность и практическую значимость тематики диссертационной работы Галимова К.Ш. для выяснения механизмов снижения оплодотворяющей способности эякулята в каждом конкретном случае, что важно для выбора оптимальной тактики диагностики и лечения бесплодия.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертация Галимова Камиля Шамилевича представляет собой комплексное научное исследование, выполненное на высоком теоретическом и методическом уровне. Основные положения, выносимые на защиту, обоснованы, четко сформулированы и адекватны цели и задачам исследования. Выводы и практические рекомендации диссертационной работы закономерно вытекают из положений, имеет подтверждение в тексте диссертации, основаны на достоверных данных, согласуются с современными научными направлениями, имеют важное научное и практическое значение. Объем данных, корректность методик исследования и проведенных расчетов позволяет считать полученные результаты статистически значимыми, а выводы и научные положения – обоснованными.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается применением адекватных дизайну исследования параметрических и непараметрических методов статистической обработки. Т-критерий Стьюдента был использован для сравнения показателей между двумя группами; взаимосвязь между тремя группами оценивалась с помощью анализа ANOVA и Tukey post hoc. Корреляционный тест Пирсона и линейная регрессия применены для анализа взаимосвязи между параметрами спермы и биохимическими показателями. При попарном сравнении частот мутаций в группах больных и здоровых лиц использовался критерий χ^2 (P) для таблиц сопряженности 2×2 с поправкой Йейтса на непрерывность. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя соотношения шансов odds ratio (OR).

Впервые получены фактические данные о взаимосвязи митохондриальной дисфункции сперматозоидов при идиопатическом бесплодии с дисбалансом окисленных и восстановленных форм никотинамидных нуклеотидов (NAD⁺ и NADH) и ключевых субстратов окисления, ассоциированным с изменениями генотипа митохондрий. Установлено сочетание генотипов rs527236194*CC гена митохондриального цитохрома В (MT-CYB), аллеля rs25487*G и генотипа rs25487*GG гена фермента репарации ДНК XRCC1 с повышенным риском развития астенотератозооспермии. Получены также новые данные об ассоциации степени фрагментации ДНК сперматозоидов и снижения величины показателя окислительно-восстановительного потенциала эякулята, что может быть использовано для оценки интенсивности оксидативного стресса у бесплодных мужчин с нормозооспермией.

Подтверждением научной новизны диссертационной работы является наличие патентов «Способ диагностики фертильности эякулята при идиопатическом бесплодии» (патент РФ на изобретение № 2789239 от

31.01.2023 г.), «Способ прогнозирования идиопатического мужского бесплодия на основе анализа нуклеотидных вариантов в гене митохондриального цитохрома В» (патент РФ на изобретение № 2800406 от 27.07.2023 г.).

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные в ходе исследования данные показали, что факт ассоциации полиморфных вариантов генов цитохрома В и белка репарации ДНК XRCC1 с нарушениями сперматогенеза может послужить основанием для формирования панели биомаркеров по выявлению сниженной мужской фертильности специалистами учреждений практического здравоохранения соответствующего профиля (перинатальных центров, клиник ВРТ и др.).

По результатам исследования автором предложена количественная оценка пределов колебания редокс-потенциала сперматозоидов, что позволяет рекомендовать использование этого метода при обследовании мужчин с различными формами патологии репродуктивной функции. Полученные результаты способствуют расширению существующих представлений о механизмах развития мужского бесплодия, в том числе идиопатического.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертационная работа Галимова К.Ш. соответствует паспорту научной специальности 3.3.3. Патологическая физиология, его пунктам 2, 4, 6 и 11 (отрасль науки: медицинские).

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Основные результаты исследования представлены в 13 научных работах, отражающих основные результаты диссертации: 8 статей - в изданиях из Перечня Сеченовского Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки РФ, в том числе 3 в журналах, включенных в международные базы Web of Science/Scopus. Получено также 2 патента РФ на изобретение.

Структура и оценка содержания работы

Диссертационная работа Галимова К.Ш. построена в классическом стиле, изложена на 133 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов, обсуждения, выводов и списка литературы. Диссертационная работа содержит 16 таблиц, 9 рисунков, которые делают изложенный материал более понятным и доступным. Список литературы включает 203 источника, из них 21 отечественный и 182 зарубежных.

Во введении четко сформулированы цель и логично определены задачи для ее реализации, даны научная новизна, практическая значимость и характеристика диссертационной работы.

В первой главе представлен обзор литературы, состоящий из двух разделов. В первой части проведен анализ современных взглядов на молекулярные и генетические механизмы патогенеза мужского бесплодия. Во втором разделе обзора приводятся актуальные данные о структурно-функциональных особенностях митохондрий сперматозоидов и их роли в развитии репродуктивных нарушений. В обзоре указаны аналитические исследования о взаимосвязи генетического и биохимического статуса сперматозоидов в норме и при идиопатическом мужском бесплодии, а также их влиянии на исходы процедур ЭКО.

Вторая глава диссертационной работы посвящена детальному описанию материалов и методов исследования. В исследование включены пациенты клиник ВРТ. Всего обследовано 230 мужчин, из них состоящих в бесплодном браке – 170 человек. Группу сравнения составили 60 мужчин, имевших от одного до трёх здоровых детей, с доказанной фертильностью, из числа доноров спермы. У всех пациентов проведен анализ эякулята по стандартизованному протоколу и выполнен комплекс молекулярно-генетических исследований

В третьей главе отражены результаты собственных исследований, в частности, оценки состояния энергетического обмена в семенной плазме, изменения окислительно-восстановительного статуса никотинамидных коферментов, динамики активности ключевых митохондриальных ферментов сперматозоидов у здоровых мужчин и пациентов с бесплодием.

В четвертой главе приведены сведения об изменениях нуклеотидной последовательности митохондриальной ДНК сперматозоидов как одной из причин мужского бесплодия, приводящих к нарушению их энергообеспечения и подвижности. Так, обнаружен полиморфизм rs527236194 гена цитохрома В с заменой триплета [ССТ] на [ССС] в позиции 15784 и к синонимичной замене пролина в позиции 346 белка. Подобное смещение кодонов может лежать в основе нарушения механизмов контроля уровня экспрессии генов. По данным автора, повышенный риск развития идиопатического бесплодия также связан с полиморфным локусом rs25487 гена белка репарации ДНК XRCC1.

В пятой главе, посвященной анализу особенностей динамики параметров окислительного стресса при идиопатическом бесплодии и экспериментальному обоснованию его рациональной коррекции, продемонстрировано, что степень антирадикальной активности у различных карнитинсодержащих соединений, предлагаемых для лечения мужского бесплодия, является объективным основанием для рекомендации применения указанных препаратов при этой форме патологии.

В обсуждении автор дает развернутую характеристику полученным результатам с привлечением данных литературы. Раздел написан подробно, выстроен логично. Завершают работу выводы, отражающие основные результаты диссертационного исследования.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат содержит исчерпывающую, хорошо иллюстрированную информацию по основным позициям выполненного исследования. В нём обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, четко определены новизна и практическая значимость работы, изложены основные положения диссертационной работы.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В рукописи имеются отдельные стилистические погрешности и опечатки, которые не снижают научной и практической ценности диссертации.

В ходе ознакомления с работой возник следующий вопрос к диссертанту:

Учитывая, что и при нормоспермии может наблюдаться выявленная Вами митохондриальная дисфункция, что Вы рекомендуете считать критерием для углубленного исследования сперматозоидов при нормальных показателях спермограммы?

Заключение

Диссертационная работа Галимова Камиля Шамилевича на тему «Митохондриальная дисфункция сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия: молекулярные и генетические аспекты», выполненная под руководством член-корр. РАН, д.м.н., профессора Литвицкого Петра Францевича и представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки), является научно-квалификационной работой, содержащей решение научной задачи по изучению роли митохондриальной дисфункции сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия, что

соответствует требованиям п.16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 06.06.2022. №0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Галимов Камиль Шамилович заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Официальный оппонент

Потемина Татьяна Евгеньевна

доктор медицинских наук

(специальность 14.03.03 - Патологическая физиология (3.3.3))

профессор, заведующая кафедрой патофизиологии

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский

медицинский университет» Минздрава России

Согласен на обработку персональных данных

«25» апреля 2024 г.

Потемина Т.Е.

Подпись доктора медицинских наук,
профессора Потеминой Т.Е. заверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО

«Приволжский исследовательский
медицинский университет»

доктор биологических наук

Наталья Николаевна Андреева

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава
России

603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1,

Телефон: +7 (831) 422-12-50

Электронный адрес: rector@pimunn.net