

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией физиологии и патологии эндокринной системы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Шолохова Леонида Федоровича на диссертационную работу Галимова Камиля Шамилевича на тему: «Митохондриальная дисфункция сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия: молекулярные и генетические аспекты», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.3.3. Патологическая физиология.

Актуальность выбранной темы

Диссертационная работа Галимова К.Ш. посвящена актуальной медико-социальной проблеме медицины – изучению идиопатического бесплодия у мужчин. В настоящее время проводятся многочисленные исследования механизмов возникновения мужского бесплодия, тем не менее, неопределенность причинно-следственных отношений и сложность патогенеза обуславливают эмпирический характер его лечения с непрогнозируемым результатом. В большинстве случаев причины снижения фертильности остаются неизвестными и, по различным оценкам, от 20 до 70% диагностированного мужского бесплодия считается идиопатическим. В настоящее время бесплодием страдает почти 190 миллионов человек во всем мире и примерно в половине случаев причиной является мужчина.

Одним из нерешенных вопросов является роль низкомолекулярных регуляторов ключевых метаболических процессов в генезе репродуктивных нарушений. Особый интерес представляют митохондрии, поскольку они являются центром метаболических процессов, таких как цикл трикарбоновых кислот, окислительное декарбоксилирование пирувата, окислительное фосфорилирование, окисление жирных кислот, биосинтез нуклеотидов и др. Митохондриальная недостаточность сопровождается изменением окислительно-восстановительного баланса и способности к биохимической

адаптации, предрасполагая к тотальным метаболическим изменениям и клеточной патологии.

Интактные митохондрии – важнейшее условие размножения млекопитающих, поскольку дисфункция митохондрий гамет связана с субфертильностью. Например, никотинамидные коферменты выполняют уникальную роль в сперматогенезе и репродуктивном старении мужчин благодаря участию в контроле баланса между делением и апоптозом зародышевых клеток, количеством и качеством митохондрий, окислительной модификации ДНК, скорости ацетилирования гистонов, эпигенетического гомеостаза и состояния других жизненно важных процессов.

Нарушения репродуктивного статуса имеют неблагоприятные последствия для здоровья в целом, так как у мужчин с низким качеством спермы отмечено увеличение смертности и уменьшение продолжительности жизни. У индивидов с двумя и более аномальными параметрами спермы риск преждевременной смерти увеличивался в 2,3 раза по сравнению с мужчинами с нормальной спермой. Поэтому качество спермы рассматривается как фундаментальный биомаркер мужского здоровья.

Экономические исследования показали, что затраты на лечение мужского бесплодия составляют в среднем около 2% общих расходов здравоохранения. Общий же ущерб от мужской заболеваемости и смертности, которые, по данным некоторых исследований тесно сопряжены с репродуктивной патологией, только в США достигают 480 млрд. долларов ежегодно.

С этих позиций исследование вопросов этиологии, патогенеза, диагностики и лечения мужского бесплодия представляет собой приоритетное направление современной репродуктивной биологии и медицины, а тема диссертационной работы Галимова К.Ш. актуальна и с научной, и с практической точки зрения.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность научных положений, сформулированных в диссертации, обусловлена адекватным дизайном и объемом исследования, комплексным методическим подходом и соответствующими поставленным задачам современными лабораторными и инструментальными методами исследования. Представленные в работе результаты хорошо документированы, они полно и наглядно проиллюстрированы таблицами, диаграммами и рисунками. В диссертационном исследовании обозначены четкие критерии включения и исключения, что позволило сформировать однородные выборки исследования. Научные положения, выводы и предложения диссертационной работы Галимова К.Ш. отличаются высокой степенью обоснованности и основательной аргументацией, что подтверждается достаточным объемом фактического материала (всего обследовано 230 пациентов), хорошо продуманным протоколом исследования, включившего широкий арсенал клинико-лабораторных и аналитических методов исследования, грамотно выполненной статистической обработкой полученных результатов, а также квалифицированным их обсуждением.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Представленный в диссертации объем полученного материала достаточен для получения статистически значимых результатов. Наличие репрезентативной выборки пациентов, адекватный цели и задачам дизайн исследования (наличие основной группы и групп сравнения), использование корректных, преимущественно непараметрических, методов статистики для обработки данных делают результаты и выводы диссертационного исследования достоверными с точки зрения доказательной медицины.

Поставленные в работе задачи и способы их решения основаны на современных положениях физиологии репродукции и молекулярной медицины, а также на изучении опыта работ отечественных и зарубежных ученых, посвященных анализу путей преодоления бесплодия в браке. Автором получен значительный объем новых данных, описывающих количественный и качественный состав эякулята у фертильных пациентов и лиц, страдающих идиопатическим бесплодием. Существенной находкой диссертанта, важной для понимания молекулярных и клеточных аспектов формирования репродуктивной патологии, является определение наиболее информативных критериев метаболических нарушений, включая генетические маркеры в спермоплазме – предикторы бесплодия.

Результаты работы позволяют наметить новые направления оптимизации методик отбора биологического материала для процедур ВРТ, совершенствования диагностики и лечения субфертильных состояний.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

К существенным результатам работы относится создание способа диагностики фертильности эякулята (патент на изобретение № 2789239 «Способ диагностики фертильности эякулята при идиопатическом бесплодии»). Автором показано, что концентрация NAD^+ в диапазоне от 91 до $120 \text{ нмоль}/10^6$ сперматозоидов соответствовала фертильному эякуляту. Разработанный способ определения уровня NAD^+ может применяться для оценки мужской фертильности в клинической андрологии как дополнительный метод диагностики бесплодия.

Данный метод позволяет еще до исследования спермограммы определить энергетический потенциал гамет и прогнозировать раннее «старение» сперматозоидов со снижением индекса фертилизации. Результаты настоящего исследования расширили представления об особенностях развития мужского бесплодия, выявили ранее неизвестные патогенетические звенья и специфические мишени для его лечения, что способствует

дальнейшему развитию принципов и методов персонализированной и предиктивной медицины.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа Галимова К.Ш. выполнена по научной специальности – 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки) и по всем параметрам соответствует паспорту данной специальности, а именно его пунктам 2, 4, 6 и 11 (отрасль науки: медицинские).

Полнота освещения результатов диссертационной работы в печати

По материалам диссертации автором опубликовано 13 печатных работ, в том числе в 8 научных статьях в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, а также в изданиях, индексируемых в международных базах данных (Web of Science, Scopus, PubMed, Chemical Abstracts), получено два патента Российской Федерации.

Структура и оценка содержания работы

Диссертация написана по традиционному плану, изложена на 133 страницах машинописного текста, содержит введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, обсуждение, выводы и список литературы, иллюстрирована 16 таблицами и 9 рисунками.

Все разделы диссертационной работы представлены в соответствии с требованиями, принятыми для научно-квалификационных работ. Изложение собственных данных характеризуется четкостью, логичностью и корректностью представления материала.

Во введении обоснована актуальность и степень разработанности темы, обозначены цель и задачи, показана научная новизна результатов и их

внедрение, теоретическая и практическая значимость работы, описаны личный вклад автора, апробация результатов на научно-практических конференциях.

В обзоре литературы представлены современные взгляды на проблему диссертационного исследования. Список литературы включает 213 источников, среди которых 31 – на русском и отечественный и 182 – на иностранных языках. Автор демонстрирует хорошее знание научной литературы по изучаемой проблеме. Полно и широко описаны актуальные сведения об этиологии и патогенезе мужского бесплодия. В первой части обзора произведен анализ современных взглядов на молекулярные и генетические механизмы, связанные с возникновением инфертильности. Во втором разделе обзора представлены данные о структурно-функциональных особенностях митохондрий сперматозоидов, оказывающих влияние на репродуктивные нарушения. Подробно описан метаболизм сперматозоидов, где митохондрии играют ведущую роль в синтезе макроэнергетических фосфатов для поддержания окислительно-восстановительного потенциала.

Во второй главе диссертационной работы автор детально описывает материалы и методы исследования эякулята и семенной плазмы, включая биохимические, морфологические, хемилюминесцентные и современные молекулярно-генетические методики. Так, для анализа мутаций гена митохондриального цитохрома В и гена белка репарации ДНК XRCC1 автором использован метод аллельной дискриминации TaqMan и секвенирование генов по Сэнгеру на автоматическом ДНК-анализаторе в режиме реального времени. Методики исследования адекватны поставленным задачам и подробно изложены на воспроизводимом уровне. Обращает на себя многоплановость и достаточный объем проведенных лабораторных исследований.

Результаты собственных исследований, представленные в третьей главе, отражают состояние энергетического обмена в семенной плазме,

изменение процессов энергопродукции в митохондриях и содержания ключевых субстратов окисления. Принципиально важным представляется установление оптимального диапазона содержания кофермента НАД⁺ в эякуляте фертильных мужчин. Продемонстрировано, что отклонение концентрации НАД⁺ в ту или иную сторону является предиктором снижения оплодотворяющей способности сперматозоидов, а также может быть одним из критериев оценки исходов процедур ВРТ.

В четвертой главе автор подробно рассматривает роль некоторых генетических маркеров в развитии мужского бесплодия. Изучены мутации гена митохондриального цитохрома В и ассоциации полиморфных локусов гена белка XRCC1 с развитием инфертильности. Показано, что дисфункция сперматозоидов у мужчин с астенотератозооспермией ассоциирована с полиморфизмом локусов rs527236194 гена митохондриального цитохрома В, rs25487*GG и аллеля rs25487*G гена белка репарации ДНК XRCC1.

В пятой главе диссертации представлена динамика показателей окислительного стресса при идиопатическом мужском бесплодии и результаты модельных экспериментов, подтверждающих необходимость его адекватной контролируемой коррекции.

В разделе «Обсуждение» диссертант всесторонне обобщил и проанализировал полученный материал в сопоставлении с данными отечественных и зарубежных авторов, что свидетельствует о достаточно высоком уровне его компетенции.

Успешное решение в ходе выполнения диссертационной работы поставленных соискателем задач позволили реализовать цель исследования и сформулировать обоснованные выводы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата в полной мере отражает основные положения, структуру, научные результаты и выводы диссертации.

Замечания и вопросы по работе

Принципиальные замечания, способные оказать влияние на общую положительную оценку работы, отсутствуют. Однако в порядке обсуждения хотелось бы получить ответы на следующий вопрос:

Уточните, пожалуйста, какие молекулярные маркеры, помимо изученных вами, являются перспективными кандидатами на роль предикторов развития идиопатического бесплодия и могут быть полезны для прогнозирования результатов ЭКО/ВРТ при повторных неудачных исходах этих процедур?

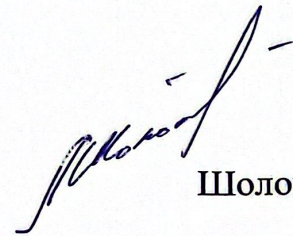
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Галимова Камиля Шамилевича на тему: «Митохондриальная дисфункция сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия: молекулярные и генетические аспекты», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки), является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи по оценке роли патологии митохондрий сперматозоидов в развитии идиопатического бесплодия, что соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждения высшего образования Первый Московский медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденного

приказом ректора от 06.06.2022 г. №0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Галимов Камиль Шамилевич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Официальный оппонент

Шолохов Леонид Федорович,
доктор медицинских наук
(специальность 14.03.03 - Патологическая физиология (3.3.3),
профессор, заведующий лабораторией
физиологии и патологии эндокринной системы
Федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Научный центр проблем здоровья
семьи и репродукции человека»
Согласен на обработку персональных данных
«24» апреля 2024 г.



Шолохов Л.Ф.

Подпись доктора медицинских наук,
профессора Л.Ф. Шолохова заверяю:
Ученый секретарь ФГБНУ
«Научный центр проблем здоровья
семьи и репродукции человека»
доктор биологических наук



Курашова Надежда Александровна

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»
Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16.
Телефон: (3952) 20-76-36, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru



Подпись *Курашовой Н.А.*
Удостоверяю
Начальник отдела
кадров



Макарова О.Н.