

## О Т З Ы В

официального оппонента доктора биологических наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ Любовь Федоровны Курило на диссертационную работу Ксении Геннадьевны Савикиной «Генетические предикторы предрасположенности и особенности развития окислительного стресса при патозооспермии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

**Актуальность** изучаемой соискателем Савикиной К.Г. проблемы – проблемы мужского бесплодия (при патозооспермии) неоднократно подчёркивают в современных научных исследованиях, обсуждают на конференциях и международных симпозиумах, посвящённых современным проблемам репродукции человека. В настоящее время широко исследуют и обсуждают различные причины нарушения репродуктивной функции и женщин, и мужчин. Окислительный стресс (ОС) рассматривают как основной фактор при различных формах мужского бесплодия (Божедомов, 2020; Agarwal et al., 2020). Окислительный стресс развивается, когда активные формы кислорода и уровни других свободных радикалов увеличены, существенно снижается уровень антиоксидантов, что приводит к нарушению баланса между окислителями и антиоксидантами (Agarwal et al., 2020). Антиоксидантные ферменты выполняют существенную роль в защите клеток от окислительного стресса в процессе сперматогенеза и оплодотворения (Rodriguez et al., 2019; Yin et al., 2020; Mahbouli et al., 2021).

**Цель настоящей работы** состояла в исследовании полиморфных вариантов генов: *SOD1* (супероксиддисмутаза), *CAT* (каталаза), *hOGG1* (8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза), *NOS3* (эндотелиальная синтаза оксида азота) и *PON1*(параоксоназа), их ассоциации с гормональным фоном и окислительным статусом семенной жидкости при различных формах патозооспермии. Для решения поставленной цели были сформулированы адекватные ей задачи:

1. Изучить интенсивность свободно-радикальных процессов в эякуляте пациентов с патозооспермией.
2. Изучить гормональный профиль эякулята у мужчин с нормозооспермией и при различных типах патозооспермии (уровень тестостерона, эстрадиола, антимюллерова гормона (АМГ), инсулиноподобного фактора роста 1, тиреотропин-рилизинг гормона, белка 1, связывающего инсулиноподобный фактор роста, и дигидротестостерона).

3. Изучить частоту встречаемости генотипов и полиморфных локусов генов *SOD1*, *CAT*, *hOGG1*, *NOS3* и *PON1* у мужчин с различными типами патозооспермии.
4. Провести исследование межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов *SOD1*, *CAT*, *hOGG1*, *NOS3* и *PON1*, ассоциированных с различными типами патозооспермии.
5. Провести многофакторный анализ для выявления корреляции между персонифицированным генотипом по изучаемым полиморфным вариантам генов, уровнем гормонов и интенсивностью свободно-радикальных процессов в эякуляте.

Работа построена по традиционному плану и состоит из Введения, трех глав: Обзора литературы, Материала и методов исследования, Результатов собственных исследований, далее - Заключение, Выводов и Списка литературы. Работа изложена на 119 страницах, содержит 19 таблиц, 15 рисунков. Обзор литературы написан с привлечением большого числа источников (литература содержит 307 источников, в том числе 225 на иностранных языках), использованных в работе полно, что отражает профессиональную ориентировку соискателя в данной проблеме. Обзор литературы в полной мере освещает современное состояние проблемы.

Для достижения поставленной цели К.Г. Савикина использовала спектр современных методов исследования: молекулярно-генетические, морфологические, биохимические и биофизические (помимо спермиологического анализа). Обследовано 788 пациентов мужского пола: с нормозооспермией (фертильные доноры эякулята) и мужчины с различными нарушениями сперматогенеза (формами бесплодия).

**Научная новизна работы - впервые** в отечественной научной литературе, на материале большой группы мужчин с бесплодием, при использовании молекулярно-генетических, морфологических, биохимических и биофизических методов, проведены многопараметрические исследования и выявлены ассоциации между некоторыми вариантами генов ферментов антиоксидантной защиты, нарушением подвижности и числа сперматозоидов, уровнем гормонов (тестостерона, эстрадиола и инсулиноподобного фактора роста -1) и интенсивностью свободнорадикальных процессов в эякуляте мужчин с бесплодием. **Впервые** определен уровень TRH (тиреотропин-рилизинг-гормон) в спермальной жидкости при различных типах патозооспермии и полиморфных вариантах генов окислительного стресса. **Впервые** показано, что риск возникновения олигозооспермии выше у лиц с носительством полиморфного варианта *hOGG1 Ser326Cys* (rs1052133).

**Впервые** показано, что риск развития любого типа патозооспермии повышается при сочетании полиморфных вариантов *NOS3 T786T x PON1 Arg192Glu* и нарастании интенсивности хемилюминесценции.

**Впервые** проведен многопараметрический анализ взаимосвязей между генотипом, окислительным стрессом и гормональным фоном у пациентов с патозооспермией.

Т.е. научный вклад исследования К.Г.Савикиной заключается в раскрытии механизмов межгенных взаимодействий генов-кандидатов (антиоксидантных ферментов) при развитии патозооспермии у мужчин с бесплодием. Получены новые данные о роли полиморфных вариантов генов ферментов антиоксидантной системы, ассоциированных с мужским бесплодием. Получены новые данные о механизмах регуляции окислительного стресса (ОС) при патозооспермии. Проведена оценка связи молекулярно-генетических маркеров, интенсивности свободно-радикальных процессов и гормонального профиля эякулята у пациентов с патозооспермией.

Практическая ценность исследования заключается в выявлении предикторов для оценки риска развития мужского бесплодия, у мужчин, имеющих в генотипе полиморфные варианты генов антиоксидантных ферментов. Создан банк образцов эякулята фертильных доноров и спермы мужчин с бесплодием. Информация данного банка может быть использована для будущих исследований мужского бесплодия.

В данной работе содержатся практические рекомендации по применению анализа полиморфных вариантов генов ферментов антиоксидантной системы *SOD1*, *CAT*, *hOGG1*, *NOS3* и *PON1*, оценки уровня интенсивности свободно-радикальных процессов, анализа гормонального профиля эякулята, анализа половых клеток при диагностике нарушений репродуктивной функции и мужском бесплодии с патозооспермией неясного генеза. Кроме того, полученные соискателем данные расширяют представления о механизмах возникновения гамеопатий, генетического контроля гаметогенеза, механизмах селекции гамет.

Подводя итог проведенному К.Г. Савикиной диссертационному исследованию, необходимо подчеркнуть, что помимо углубления современных представлений о роли межгенных взаимодействий в развитии патозооспермии, полученные данные позволили соискателю продемонстрировать необходимость проведения комплексного клинико-андрологического обследования лиц мужского пола с бесплодием, включающего помимо традиционных методов исследования (спермиологический анализ, молекулярно-генетическое исследование половых клеток эякулята,) анализ полиморфных вариантов генов *SOD1*, *CAT*, *hOGG1*, *NOS3* и *PON1*, оценка уровня интенсивности свободно-радикальных процессов, гормональный профиль эякулята.

Высказанные соискателю замечания – не принципиальные и относятся к редакционным.

Основные выводы работы соответствуют поставленной цели и сформулированным задачам, полученным результатам исследования. Материалы диссертационной работы достаточно полно отражены в 16 публикациях: в 8 статьях и 8 тезисах. Вследствие научной и практической значимости полученных К.Г.Савикиной научных данных их желательнее шире осветить в печати, в том числе - в периодических медицинских изданиях.

Исследование К.Г. Савикиной «Генетические предикторы предрасположенности и особенности развития окислительного стресса при патозооспермии», выполненное при научном руководстве д.б.н., профессора Шкурат Т.П., полностью отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (Положения ВАК РФ) и заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика.

#### **Личный вклад автора.**

Личный вклад соискателя состоит в выборе направления исследования, обзоре литературы по теме диссертации, получении оригинальных результатов на всех этапах экспериментальных исследований, анализе и обобщении полученных результатов. Тема исследования, цель, задачи, объекты выбраны соискателем совместно с научным руководителем. Автором проведено общеклиническое обследование, выполнены анализы у доноров эякулята и у пациентов с бесплодием, статистическая обработка и научное обоснование результатов.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности.**

Научные положения диссертации соответствует формуле специальности 03.02.07 - генетика.

#### **Апробация работы**

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены на заседании апробационной комиссии.

#### **Внедрение в практику**

Разработанные принципы обследования пациентов с патозооспермией с целью исследования окислительного стресса при патозооспермии внедрены в практику ряда клинических лабораторий Ростова-на-Дону и их используют в учебном процессе Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ.

Исследование К.Г. Савикиной «Генетические предикторы предрасположенности и особенности развития окислительного стресса при патозооспермии», выполненное при научном руководстве д.б.н., профессора Шкурат Т.П., полностью отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016 г., №650 от 29.05.2017г., №1024 от 28.08.2017 г., №1168 от 01.10.2018 г.), а также пункту 2 Положения о присуждении ученых степеней в Южном федеральном университете (Приказ 260 -ОД от 30.11.2021) предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика.

25 августа 2022 года.

Главный научный сотрудник ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», заслуженный деятель науки РФ, доктор биол. наук, профессор, 03.02.07 – генетика

служ.тел: 8-499-324-13-20; дом.тел: 8-495-744-88-68

[kurilo@med-gen.ru](mailto:kurilo@med-gen.ru); [reprolab@med-gen.ru](mailto:reprolab@med-gen.ru)

Любовь Федоровна Курило

Подпись доктора биол. наук, проф. Л.Ф. Курило подтверждаю

Ученый секретарь ФГБНУ «МГНЦ»,

кандидат медицинских наук



Е.С. Воронина