

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, **Аmeliной Светланы Сергеевны** на диссертационную работу Савикиной Ксении Геннадьевны на тему: «Генетические предикторы предрасположенности и особенности развития окислительного стресса при патозооспермии», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Актуальность исследования

Генетические факторы являются одной из частых причин нарушения формирования гамет, что в конечном итоге приводит к нарушениям репродукции и бесплодию. Сперматогенез является сложным, крайне чувствительным процессом клеточной дифференциации, в регуляции которого участвуют различные процессы и системы организма. Нарушения в каждом из звеньев, воздействующих на процесс сперматогенеза, в конечном итоге отражаются на параметрах эякулята. Помимо генетических, значимую роль в процессе сперматогенеза играют эндокринные факторы и факторы внешней среды. Кроме генетических факторов, образ жизни, хронические заболевания, вредные привычки, питание могут быть факторами, приводящими к развитию окислительного стресса. Окислительный стресс, сопровождающийся высоким содержанием активных кислородных метаболитов (АМК), наблюдается в спермальной плазме у 30–80% бесплодных пациентов. Высокие уровни АМК способствуют ухудшению качества спермы главным образом за счет снижения подвижности и повышения уровней окисления ДНК, окисления белков и перекисного окисления липидов на мембране сперматозоидов. Попытка обоснования в данной работе механизмов формирования инфертильного состояния у мужчин при различных видах патозоспермии с позиции молекулярно-генетических особенностей, показателей гормонального статуса и окислительного стресса делает диссертационное исследование Савикиной Ксении Геннадьевны актуальным.

Научная новизна

В рамках диссертационного исследования на основе молекулярно-генетических, цитологических, биохимических и биофизических методов выявлены ассоциации между некоторыми полиморфными вариантами генов антиоксидантной защиты, нарушением подвижности и количества сперматозоидов, уровнем гормонов и интенсивностью свободнорадикальных процессов в эякуляте бесплодных мужчин. Впервые определен уровень тиреотропин-рилизинг-гормона в спермальной жидкости при различных типах патозоспермии. Впервые показано, что риск возникновения олигозооспермии выше у лиц с носительством минорного аллеля гена 8-оксигуанина-ДНК-

гликозилазы1 (*hOGG1 Ser326Cys*). Впервые показано, что риск развития любого типа патозооспермии повышается при сочетании полиморфных вариантов генов эндотелиальной синтазы азота и параоксоназы-1 (*NOS3T786T x PON1Arg192Glu*), если при этом регистрируется повышенная интенсивность свободно-радикальных процессов в семенной плазме.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Научный вклад работы заключается в раскрытии механизмов межгенных взаимодействий генов-кандидатов при развитии патозооспермии у бесплодных мужчин. Получены новые данные о роли полиморфных вариантов генов ферментов антиоксидантной системы, ассоциированных с мужским бесплодием. Проведена оценка связи молекулярно-генетических маркеров, интенсивности свободнорадикальных процессов и гормонального профиля эякулята у мужчин с патозооспермией. Показано, что сверхпродукция активных форм кислорода в эякуляте при патозооспермии, может способствовать развитию мужской инфертильности не только напрямую, индуцируя окислительный стресс, но и опосредованно, действуя через гипоталамо-гипофизарно-гонадную и другие гипоталамические гормональные оси, нарушая гормональный баланс и вызывая развитие бесплодия. Практическое значение работы заключается в обнаружении предикторов для оценки риска развития бесплодия у мужчин, что позволит разработать новые подходы к лечению мужской инфертильности.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Савикиной К.Г. построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения и выводов. Объем текста диссертации составляет 119 страниц. Иллюстративный материал представлен 19 таблицами и 15 рисунками. Список цитируемой литературы включает 82 отечественных и 225 зарубежных источников.

В разделе «Введение» автором обоснована актуальность исследования; сформулированы цели и задачи исследования; определена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

В «Обзоре литературы», состоящем из 5 разделов, автор подробно описывает механизмы генетической регуляции сперматогенеза, проводит анализ влияния окислительного стресса на сперматогенез, дает характеристику гормонам семенной плазмы и оценку вклада в мужское бесплодие исследуемым полиморфным вариантам генов. Обзор литературы дает полное всестороннее представление по изучаемой проблеме и обосновывает необходимость проведения настоящего исследования.

В главе «Материалы и методы исследования» описан дизайн исследования, критерии включения и критерии исключения при формировании групп в модели «случай-контроль». На основе пятого руководства ВОЗ (WHO, 2010)

сформированы пять исследуемых групп. Диссертантом приведена подробная информация об использованном в работе биоматериале, молекулярно-генетических, цитологических, биохимических и статистических методах. Выбранные методы полностью соответствуют поставленным в диссертационном исследовании целям и задачам.

Глава «Результаты собственных исследований» представлена пятью разделами. В первом разделе представлены результаты оценки интенсивности свободно радикальных процессов в эякуляте бесплодных мужчин с различными типами патозооспермии с помощью метода индуцированной хемилюминесценции в системе H_2O_2 -люминол.

Во втором разделе представлены результаты анализа гормонального профиля эякулята у мужчин в норме и при различных формах патозооспермии. Диссертантом установлено, что при патозооспермии наблюдается существенный дисбаланс гормонального профиля спермы у инфертильных мужчин.

Третий раздел освещает роль полиморфных локусов генов эндотелиальной синтазы азота, параоксоназы-1, супероксиддисмутазы-1, каталазы и 8-оксигуанина-ДНК-гликозилазы 1 (*NOS3*, *PON1*, *SOD1*, *CAT* и *hOGG1*) в развитии патозооспермии. Диссертантом выявлено, что риск развития олигозооспермии повышается при наличии в генотипе минорного аллеля гена 8-оксигуанина-ДНК-гликозилазы 1 (*hOGG1*, rs1052133).

В четвертом разделе продемонстрированы межгенные взаимодействия полиморфных локусов генов ферментов, принимающих участие в свободно радикальных процессах при патозооспермии. В ходе исследования выявлено, что риск развития любого типа патозооспермии повышается при сочетании полиморфных вариантов *NOS3C786xPON1Arg192Glu*.

В пятом разделе с помощью мультифакторного анализа показана взаимосвязь между генотипом, окислительным стрессом и гормональным фоном у мужчин с патозооспермией. Методом редукции многофакторной размерности (MDR) установлено, что наибольшей достоверностью и воспроизводимостью среди возможных MDR-мультилокусных моделей для определения риска развития мужской инфертильности в исследованной популяции обладает пятилокусная модель *SOD1G7958A x CAT C262T x PON1 Arg192Glu x NOS3C786T x hOGG1 Ser326C*. Данная модель включает важнейший комплекс полиморфных вариантов генов антиоксидантных ферментов, гена эндотелиальной NO-синтазы, регулирующей сигнальный путь NO/cGMP/PKG, и ген фермента эксцизионной репарации ДНК, которые могут вносить критический вклад в развитие окислительно-нитрозильного стресса и окислительное повреждение ДНК при мужской инфертильности.

В «Заключении» автор кратко резюмирует основные полученные результаты. Подробно обсуждены источники широкого спектра активированных

кислородных метаболитов, образующихся в репродуктивной системе при мужском бесплодии. Сформулированные диссертантом выводы отображают результаты исследования и соответствуют поставленным в исследовании целям и задачам.

По теме диссертации опубликовано 16 работ, из которых 8 статей в журналах (3 из них входящих в перечень ВАК и международные базы цитирования) и 8 тезисов конференций.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет, обращает внимание, что на рисунке 3.1.1. не указан доверительный интервал и уровень значимости полученных данных.

В процессе рецензирования диссертационной работы возникли некоторые вопросы к соискателю.

Вопросы:

- 1) Какие критерии Вы использовали при выборе исследуемых генов и их полиморфных локусов?
- 2) Как понять фразу «Сила и направленность взаимодействия выражены в % энтропии» (рис. 3.4.1.)?
- 3) В работе не исследовали полиморфизмы гена, кодирующего фермент глутатион-пероксидаза (*GPX-1*) - основного антиоксидантного фермента спермы. Известны ли Вам данные научной литературы об ассоциации полиморфных вариантов гена *GPX-1* с различными типами патоспермии?

В целом, диссертационная работа производит благоприятное впечатление. Материалы и использованные методы полностью соответствуют целям и задачам исследования. Сама идея работы и комплексный всесторонний подход к изучению особенностей развития окислительного стресса при патозооспермии указывают на высокий научно-методический уровень выполненного диссертационного исследования. Автореферат диссертации полностью соответствует тексту диссертации и отражает все основные разделы работы, выводы и результаты.

Заключение

Диссертация Савикиной К.Г. представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук соответствует паспорту специальности 03.02.07 - «Генетика», в том числе пунктам п.1 «Молекулярные и цитологические основы наследственности»; п.8 «Генетика индивидуального развития. Аппоптоз. Иммуногенетика»; п.14. «Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни. Генотоксикология. Генотерапия».

Таким образом, диссертационная работа Савикиной Ксении Геннадьевны на тему: «Генетические предикторы предрасположенности и особенности развития окислительного стресса при патозооспермии» является законченной научно-квалификационной работой, в которой сформулированы научные положения,

совокупность которых можно квалифицировать как решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для генетики. По своей актуальности, новизне и научно-практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям пунктам 9-11 и 13-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в редакции постановления Правительства РФ №335 от 21.04.2016 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней и постановлений Правительства РФ №1024 от 28.08.2017 г., №1168 от 01.10.2018 г. и №426 от 20.03.2012 г.), а также пункту 2 Положения о присуждении ученых степеней в Южном федеральном университете (Приказ 260-ОД от 30.11.2021), а ее автор, Савикина Ксения Геннадьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Профессор кафедры гематологии и трансфузиологии
ФПК и ППС с курсом клинической лабораторной диагностики,
генетики и лабораторной генетики

Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Ростовский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(шифр научной специальности – 03.02.07 – генетика)

доктор медицинских наук

Амелина Светлана Сергеевна

344022, Российская Федерация, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, пер.
Нахичеванский, д. 29, Тел.: +7 (863) 250-42-00

Личную подпись д.м.н., профессора кафедры гематологии и трансфузиологии
ФПК и ППС с курсом клинической лабораторной диагностики, генетики и
лабораторной генетики, Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования «Ростовский
государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации Амелиной С.С. заверяю:

Начальник отдела кадров ФГБОУ ВО РосГМУ Минздрава России



« » _____ 2022 г.