

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу Жилкової Євгенії Станіславівни «Генетичні аспекти зниження репродуктивної функції чоловіків у Східній Україні» на здобуття ступеня кандидата біологічних наук по спеціальності 03.00.15 – генетика

Актуальність вибраної теми: Допоміжні репродуктивні технології – як метод корекції репродуктивного здоров'я родини, забезпечує народження дитини, зокрема, і в родинях безплідних мужчин. Загально визнано також, що гамети безплідних чоловіків часто є носіями порушень генетичного матеріалу, що зрештою може привести до безпліддя в родині, рівно ж як і до закріплення спадкової патології у поколіннях цієї родини. Відповідно, дисертаційна робота Жилкової Євгенії Станіславівни, присв'ячена вивченню генетичних факторів ризику формування порушення фертильності чоловіків і процесів ембріогенезу у програмах екстракорпорального запліднення, є актуальною та своєчасною.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій з їх критичною оцінкою порівняно з відомими рішеннями: В рецензованій дисертаційній роботі для реалізації поставленої мета вирішувалися чітко сформульовані завдання, які були обґрунтовані в огляді літератури, і яким відповідали отримані результати, підсумовані у коректних висновках.

Як результат, вперше на моделі східноукраїнського регіону проведені дослідження генетичних передумов зниження фертильності у чоловіків та зроблено аналіз впливу генетичних порушень в сперматозоїдах на процеси ембріогенезу при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій.

Дослідження проведені по наступній схемі:

1. Базові цитогенетичні та молекулярно-цитогенетичні дослідження лімфоцитів периферійної крові та сперматозоїдів, отриманих від інфертильних чоловіків та молекулярно-генетичні дослідження частин геному, які безпосередньо причетні до плідності чоловіка, а саме: AZF-локусу Y-хромосоми та мутації гена *CFTR*.

2. З'ясування можливих механізмів формування порушень процесів сперматогенезу. Зокрема, оцінено спектр цілого ряду поліморфізмів генів фолатного обміну та рецептора до фолікулостимулюючого гормону у взаємозв'язку із фрагментацією ДНК та частотою анеуплоїдій у гаметах, і як результат, кількістю, рухливістю та морфологією гамет.

3. Оцінка процесів раннього розвитку ембріонів, отриманих в результаті екстракорпорального запліднення сперматозоїдами обстежуваних чоловіків, у взаємозалежності від рівня фрагментації ДНК та частоти анеуплоїдій.

Дисертаційна робота виконана у рамках НДР «Вивчення клініко-патогенетичних механізмів розвитку недиференційованої дисплазії сполучної тканини в ремодельованні еластично-тканинних структур організму людини» (номер державної реєстрації 0112U001027, 2014–2015 рр.) і «Генетичні передумови розвитку та корекції спадкової патології на різних етапах онтогенезу людини та тварин» (номер державної реєстрації 0116U005341, 2016–2017 рр.) медичного факультету ХНУ імені В. Н. Каразіна.

Автором проведені основні лабораторні дослідження, статистичний аналіз та узагальнення отриманих результатів, сформульовані основні положення і висновки роботи. Робота у співавторстві представлена в публікаціях.

Достовірність і новизна отриманих результатів: Вперше на моделі східноукраїнського регіону проведено дослідження впливу генетичних порушень в сперматозоїдах на процеси ембріогенезу при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій. Зокрема, запропоновано критичне значення рівня фрагментації ДНК (DNA fragmentation index, DFI) у сперматозоїдах – 20%. Вперше показано, що рівень фрагментації ДНК та анеуплоїдій у сперматозоїдах підвищується у чоловіків у Східній Україні після 35 років, у діапазоні 20–75% та 1,3–4,5 %, відповідно. Представлено асоціацію підвищеного рівня фрагментації ДНК (DFI > 20 %) у сперматозоїдах чоловіків зі зниженням фертильності з поліморфними варіантами G919A і A2039G гена рецептора до фолікулостимулюючого гормону *FSHR*. Дістало подальшого розвитку дослідження зв'язку поліморфних варіантів генів фолатного обміну *MTHFR*, *MTRR* з рівнем фрагментації ДНК та анеуплоїдіями у чоловічих гаметах та виявлено генотипи, пов'язані з кількісними показниками анеуплоїдії за хромосомами 13, 16, 18, 21, X та Y у сперматозоїдах. Оцінено рівні фрагментації ДНК та анеуплоїдій у сперматозоїдах, при досягненні яких знижується частота формування бластоцист високої якості – при фрагментації ДНК > 5 % і рівні анеуплоїдій > 1,3 % у сперматозоїдах частота формування бластоцист 1AA–4AA зменшується у півтора рази.

Якість використаних для досліджень методів, репрезентативність отриманих результатів: Отримані результати базуються на великому (репрезентативному) дослідницькому матеріалі при використанні сучасних адекватних методик та коректному статистичному опрацюванні.

Рекомендації по подальшому використанню результатів праці та доцільність продовження і розвитку відповідних досліджень: Вважаю, що проведені дослідження є базовими для подальшої роботи по оцінці генетичних передумов зниження фертильності у чоловіків та впливу генетичних порушень в сперматозоїдах на процеси ембріогенезу при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій. Праця є надзвичайно актуальною та

перспективною і її необхідно продовжити та поглибити по кожному із запропонованих розділів.

Повнота використання в роботі літератури в даній галузі: В огляді літератури дисертант представлена література останніх років по проблемі і зроблений детальний історичний екскурс у становлення і розвиток допоміжних репродуктивних технологій у світі та в Україні. *Доцільність останнього дозволю собі поставити під сумнів.*

Оцінка наукової та літературної якості складу матеріалу і стилю дисертації та автореферату: Дисертаційна робота написана за традиційною схемою, викладена на 158 сторінках, ілюстровано матеріал дисертаційної роботи 27 таблицями та 16 рисунками, Список використаних джерел налічує 283 найменувань в переважній більшості останніх 5-10 років. Виклад матеріалу ґрунтується на поставленій меті та завданнях, висновки відповідають поставленим завданням. Огляд літератури складається з 3-х підрозділів. Розділ 2, присв'ячений описові застосованих методик та методів досліджень, написаний відповідно до вимог. Власні результати викладені у 4 підрозділах. Кожен підрозділ починається з короткої анотації та супроводжується коротким літературним оглядом, що покращує сприйняття матеріалу. Після власних результатів є «Узагальнення», «Висновки» та «Практичні рекомендації», в яких коректно підсумовуються отримані результати та їх практична цінність.

Відповідність автореферату змісту дисертації: Автореферат повністю відповідає змісту дисертаційної роботи.

Повнота викладу основного змісту дисертації в опублікованих працях у наукових фахових виданнях: За результатами дисертаційної роботи опубліковано 19 наукових праць, у тому числі 8 статей у наукових фахових виданнях України, 2 — в іноземних наукових фахових виданнях, 2 — у наукових фахових виданнях України з суміжних галузей науки, 1 — в інших наукових виданнях України, де вони проходили додаткове рецензування. За результатами роботи зроблено 6 доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних конференцій, конгресів і з'їздів, 1 методичні рекомендації МОЗ України.

Зауваження та запитання, які виникли при рецензуванні роботи:

1. *Дисертаційна робота присв'ячена вивченню генетичних аспектів чоловічого неплоддя, хоча починаючи з вступної частини роботи, а саме при означенні актуальності теми, і закінчуючи ілюстраційним матеріалом, занадто поверхнево охарактеризовані генетичні аспекти чоловічого неплоддя.*

2. *Вважаю не зовсім доречним такий широкий спектр досліджень (цитологічні, цитогенетичні, молекулярно-цитогенетичні, імуноферментні, морфометричні) при виконанні кандидатської дисертаційної праці.*
3. *Вважаю не зовсім вдалим означення предмету дослідження, яке закінчується так: «...та клітин ранніх ембріонів, отриманих від чоловіків із зниженою фертильністю».*
4. *Як практичне застосування результатів пропонується дослідження поліморфних варіантів генів фолатного обміну, пов'язаних з підвищенням рівня фрагментації ДНК та анеуплоїдії у сперматозоїдах. Виникає питання: «Який сенс таких досліджень, чи не простіше визначити безпосередньо фрагментацію ДНК і рівень анеуплоїдії?»*
5. *Як практичне застосування результатів «показана доцільність проведення подальших досліджень генетичної гетерогенності азооспермії для формування стратегії лікування чоловічого непліддя». Прошу охарактеризувати стратегічні підходи в лікуванні азооспермії.*
6. *Прошу охарактеризувати критерії відбору чоловіків для генетичних досліджень. Чи це була унікальна група для всіх генетичних досліджень? Чи обстежувалися при цьому жінки (родина в цілому)?*
7. *З якою метою застосовувався С-метод забарвлення хромосом лімфоцитів?*
8. *Чи проводили оцінку хлоридів поту при відборі пацієнтів для молекулярно-генетичного дослідження мутації гена CFTR?*
9. *Чим Ви можете пояснити відсутність мікрделецій Y хромосоми у досліджуваного контингенту осіб, і яким чином Ви виключаєте методичну помилку?*

Вважаю, що дисертаційна робота Жилкової Євгенії Станіславівни «Генетичні аспекти зниження репродуктивної функції чоловіків у Східній Україні» є завершеною науковою працею, яка присвячена з'ясуванню генетичних передумов зниження фертильності у чоловіків та аналізу впливу порушень сперматогенезу на процеси раннього ембріогенезу при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій.

Жилкова Євгенія Станіславівна зібрала великий за об'ємом експериментальний матеріал, провела різнопланові дослідження для досягнення поставленої мети, що дозволило отримати достовірні дані та зробити повністю обґрунтовані висновки. За усіма

цими показниками, а також за актуальністю, новизною та практичною цінністю дисертаційна робота Жилкової Євгенії Станіславівни відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженим постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний опонент

Завідувач відділення діагностики
спадкової патології ДУ «Інститут
спадкової патології НАМН України»,
доктор біологічних наук, професор



Заставна Д.В.

15.06.2017р.

