

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО
«Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский
университет имени акад. И.П. Павлова»

Министерства здравоохранения
Российской Федерации

академик РАН, д.м.н., профессор

Ю. С. Полушин

«*марта*» 2023 года



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Охоботова Дмитрия Александровича на тему «Оценка эффективности современных методов лечения мужского бесплодия и возможности использования обогащенных клеточных культур», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности: 3.1.13 Урология и андрология (Медицинские науки).

Актуальность темы исследования

Проблема поиска новых средств восстановления фертильности у мужчин является одной из важнейших задач, стоящих перед современной медициной. Проживание в условиях хронического ухудшения экологической обстановки на планете, проявлений парникового эффекта, перерасхода ресурсов и активизации источников различных излучений, а также особенностей образа жизни, привело к тому, что из года в год, из поколения в поколение, происходит хроническое снижение качества мужского эякулята. Сегодня на планете бесплодна каждая 6 супружеская пара, причем доля мужского фактора составляет 50%. За последние 60 лет минимальное пороговое значение нормы спермограммы по данным Всемирной Организации Здравоохранения снизилось в 5 раз (с 60 до 12 миллионов

сперматозоидов в 1 миллилитре). По данным последнего пересмотра нормативов спермограммы, с учетом критериев Крюгера, репродуктологи вынуждены считать фертильным пациента, имеющего всего 4% нормальных сперматозоидов. Помимо внешних социальных, экологических и демографических причин на мужской фактор фертильности оказывают влияние привычные интоксикации, стрессы, особенности поведения и другие факторы, что приводит к большим трудностям, в разработке адекватных методов восстановления сперматогенеза, за счет коморбидности, полиэтиологичности, а также функциональной взаимосвязи мужских гонад со всеми системами и органами. Нельзя забывать и о том, что специальная терапия, предназначенная для лечения нарушений сперматогенеза фактически отсутствует. Рекомендации по регуляции образа жизни на фоне использования витаминов, микроэлементов, антиоксидантов и ферментов являются недостаточно эффективным способом для лечения нарушений сперматогенеза.

В последние годы, появившиеся инновационные методики лечения, такие как нанотехнологии, генная инженерия, терапия стволовыми клетками, и успехи их применения, о которых периодически сообщается в мировой печати, заслуживают пристального внимания и могут рассматриваться в качестве перспективных методов для лечения мужского бесплодия.

В связи с этим, тема диссертационной работы Охоботова Дмитрия Александровича на тему «Оценка эффективности современных методов лечения мужского бесплодия и возможности использования обогащенных клеточных культур» актуальна, имеет не только медицинское, но и социальное значение.

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Медицинского научно-образовательного центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения

высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Результаты диссертационного исследования Охоботова Дмитрия Александровича вошли в отчеты по НИР Медицинского научно-образовательного центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Полученные Охоботовым Дмитрием Александровичем результаты отличаются несомненной новизной.

Автором впервые проведена оценка эффективности полного цикла лечения infertility у пар с мужским фактором infertility. Проанализированы неудачи и дан процентный прогноз на получение беременности в паре, где мужчины имеют то или иное заболевание, в том числе воспалительных заболеваний простаты (патент РФ № RU2408378C2 «Способ лечения хронического простатита»), нарушающее процессы сперматогенеза и фертильность.

Выполнена комплексная сравнительная оценка эффективности терапии культурами, обогащенными стволовыми и прогениторными клетками в различных тканеспецифичных вариантах и сочетаниях (патент РФ №. RU2653779C1 «Способ стимуляции сперматогенеза»). Проведен ряд сравнительных анализов по изучению эффективности методов клеточной терапии на животных моделях. Подтверждена клинически значимая эффективность и превосходство билатеральной подкапсульной терапии культурами в ксеногенном, аллогенном и аутологичном вариантах над монолатеральной, доказана разница в клинической эффективности использования культур, полученных от старых и молодых животных, исследован клинический эффект использования культур, полученных из плаценты и пуповины человека и их влияние на восстановление нарушенного

сперматогенеза, гормонального фона и фертильности животных. Определена минимальная терапевтическая клеточная доза, которая обуславливает эффективность терапии, для различных видов культур. Проведен комплексный иммуногистохимический маркерный анализ тканей реципиентов с исследованием активности стволовости, функциональной активности, дифференцировки и пролиферации стволовых клеток до и после экспериментальной терапии клеточными культурами. Исследовано влияние различных индукторов клеточной дифференцировки и изучено их влияние на качество восстановления сперматогенеза.

Впервые установлена и продемонстрирована безопасность использования кондиционированных сред с секретом культур стволовых/прогениторных клеток, выделенных из мезенхимальных клеток жировой ткани, и их возможности по восстановлению нарушенного сперматогенеза и гормонального фона у животных, в сравнении с использованием этой же клеточной культуры и контролем (патент РФ RU2652902C1 «Способ стимуляции сперматогенеза»).

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Диссертационное исследование Охоботова Дмитрия Александровича имеет важное как теоретическое, так и практическое значение, поскольку проведен комплексный анализ качества и эффективности восстановления сперматогенеза и фертильности в эксперименте, с помощью культур, обогащенных стволовыми/прогениторными клетками в ксеногенном, аллогенном и аутологичном вариантах на животной модели двухстороннего абдоминального крипторхизма. При этом определена минимальная терапевтическая доза клеток для эффективного восстановления сперматогенеза, для культур различных видов и происхождения.

Была подтверждена эффективность подкапсульного введения культур, обогащенных стволовыми/прогениторными клетками различного происхождения.

Автором была разработана методология всех компонентов и этапов терапевтического цикла, проверка фактора билатеральности введения и иммуногистохимический маркерный анализ всех этапов клеточной дифференцировки. Проведена оценка сравнительной эффективности лечения различных форм мужской инфертильности. Проведен анализ и выявлены корреляции взаимной факторной отягощенности и их влияния на успешность восстановления сперматогенеза.

Диссертантом проведены исследования восстановления функции сперматогенного эпителия кондиционированными средами с факторами роста (секретомом) мезенхимальных стволовых и прогениторных клеток жировой ткани на крипторхической модели.

Показано, что эффективность современных методов консервативного лечения мужского бесплодия, включая ВРТ (ЭКО-ИКСИ) не превышает 45,9%. Поэтому использование терапии культурами, обогащенными стволовыми и прогениторными клетками может рассматриваться в качестве альтернативного направления, способного активизировать в яичке регенеративные процессы по устранению нарушений сперматогенеза. С учетом того, что данный вид лечения для коррекции нарушения сперматогенеза в нашей стране не разрешен, более перспективным является направление по использованию продуктов секреции стволовых клеток, что более безопасно, исключает множество этических и биологических вопросов и обладает эффективностью, сравнимой с терапией обогащенными клеточными культурами.

Важное значение для клинической практики имеет то, что на основе результатов проведенных работ, на основе секретомы стволовых и прогениторных мезенхимальных клеток жировой ткани человека создан стимулирующий препарат, который в настоящее время проходит 1 фазу клинических испытаний.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные Охоботовым Дмитрием Александровичем результаты исследования внедрены в практическую деятельность в ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» обособленное подразделение Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, а также в учебный процесс кафедры урологии и андрологии Факультета Фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Результаты диссертационной работы Охоботова Дмитрия Александровича можно рекомендовать для применения в клинической практике лечебно-профилактических учреждений, оказывающих урологическую, андрологическую и репродуктологическую помощь, использовать в учебном процессе высшего профессионального образования ВУЗов при подготовке студентов, в также врачей специалистов, урологов андрологов и репродуктологов на учебных циклах усовершенствования врачей.

Достоверность результатов работы, обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов, а также обоснованность выводов и практических рекомендаций основывается на достаточном объеме научного материала и количестве наблюдений, а также на использовании современных методов статистического анализа. Представленные к защите данные являются подлинными, оригинальными и получены лично автором, в чем можно убедиться при изучении диссертации.

Диссертационное исследование построено согласно четко разработанному дизайну, позволяющему достичь поставленной цели при реализации сформулированных задач.

Положения, выносимые на защиту, основаны на полученных автором в ходе исследования результатах, сформулированные выводы вытекают из

содержания работы и являются ее логичным завершением, полностью соответствуя поставленным задачам. Практические рекомендации основаны на полученных результатах.

Статистическая обработка результатов основана на современных методиках с позиции доказательной медицины, что убеждает в достоверности полученных данных. Графическая демонстрация (таблицы и рисунки) наглядно отражают конкретные результаты.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению

Диссертация изложена на 244 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 8 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы, включающего 21 отечественных и 172 зарубежных источников литературы. Работа иллюстрирована 46 таблицами, 28 диаграммами и 47 рисунками.

Во введении ясно сформирована актуальность работы, обозначена степень разработанности темы, сформулирована цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая ценность работы. Сформулированы положения выносимые на защиту и указан личный вклад автора.

В обзоре литературы подробно изучены причины и современные методы лечения мужского бесплодия, сделан акцент на использование обогащенных клеточных культур различных видов при лечении инфертильности в эксперименте на животных моделях.

Диссертационная работа состоит из 2 этапов: клинической и экспериментальной. В клинической части приведены данные обследования 1 012 супружеских пар, проведена оценка выраженности мужского фактора бесплодия, подробно разобраны причины инфертильности. Для анализа результатов коррекции сперматогенеза и оценки эффективности процедур ВРТ, нами были отобраны 292 мужчины (28,8%) с преобладающим фактором инфертильности и здоровыми женами. В отдельную группу были выделены 96 пациентов с идиопатическими формами инфертильности (32,87%),

распространенность которых была выше, чем в общей группе мужчин с нарушением фертильности (17,32%). Таким образом, общее количество пациентов рандомизированных в исследовательскую группу составило 196 человек (19,36%) от общего количества обследованных пар. Пациентам с нарушениями спермограммы проведено 1-3 курса лечения, стимулирующего сперматогенез (витамины, микроэлементы, ферменты, антиоксиданты и т.д.). Те пациенты, у которых после 1 года интенсивной терапии в паре добиться беременности не удалось были в дальнейшем проведены по протоколу ЭКО (ИКСИ), не более 2 протоколов, где фиксировался факт наступления или отсутствия беременности. Суммарный период наблюдения за парами составил от 9 до 14 месяцев. Автореферат в полном объеме соответствует основным данным, представленным в диссертации, и отражает ее наиболее существенные положения, выводы и практические рекомендации.

Экспериментальное исследование было разделено на 4 этапа: На 1 этапе осуществлялось исследование изначальной фертильности у экспериментальных животных, которая была определена путем случайной выборки и подсадки 25% животных к самкам и выявления факта наличия беременности у самок и родов, причем, все 100 % животных были изначально фертильными. Во время проведения 2 этапа животным выполнялась операция по формированию двухстороннего абдоминального крипторхизма, по модели Дендеберова– Кирпатовского, с экспозицией семенников крыс и мышей в течение 21 суток, после чего производилось низведение яичек в мошонку, с одновременным введением 12 культуральной взвеси того или иного вида, и с последующим контролем теми или иными методами, описанными далее. Во время проведения 3 этапа части животных проводилась оценка фертильности специально выделенной части животных, которым не проводились контрольные методы исследования второго этапа. На 4 этапе животным выполнялись дополнительные эксперименты, которые не были связаны с методами контроля 2 и 3 фаз. Изучались особенности клинического действия культур и кондиционированных сред на основе

секретома МСК ЖТ на животных моделях с проведением иммуногистохимического маркерного анализа.

Принципиальных замечаний по оформлению диссертационной работы нет.

Однако данная работа вызывает ряд вопросов:

1. Почему для исследуемой модели выбрана модель абдоминального крипторхизма?
2. Почему у пациентов с наличием воспалительных реакций в эякуляте результаты лечения менее эффективны, чем при аномальных формах?
3. Будут ли более эффективны экспериментальные клеточные трансплантации, если использовать дозы более 500000 ЕД на 1 яичко.
4. Почему клеточные культуры различного происхождения демонстрируют сравнительно одинаковые стимулирующие сперматогенез результаты?

Высказанные позиции не имеют принципиального значения и в целом не снижают ценность выполненного диссертационного исследования.

Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

Основные результаты диссертационного исследования отражены в 76 опубликованных работах, в том числе 28 статьях в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций. Получено 3 патента РФ: патент РФ № RU2408378C2 «Способ лечения хронического простатита»), патент РФ №. RU2653779C1 «Способ стимуляции сперматогенеза» и патент РФ RU2652902C1 «Способ стимуляции сперматогенеза».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Охоботова Дмитрия Александровича на тему: «Оценка эффективности современных методов лечения мужского бесплодия и возможности использования обогащенных клеточных культур», является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой в

которой содержится решение актуальной проблемы мужского бесплодия, консервативная терапия которой, включая ВРТ (ЭКО-ИКСИ), не превышает 46%, и предложены пути решения, которые имеют существенное значение в соответствующей отрасли знаний.

Таким образом, по своей актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов, а также объему и уровню проведенного исследования диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», от 24.09.2013 г., № 842 (с изменениями от 26.09.2022 г., №1690) утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени, а её автор Охоботов Дмитрий Александрович заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности: 3.1.13 Урология и андрология (медицинские науки).

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры урологии с курсом урологии с клиникой ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, протокол № 170 от 17 марта 2023 года.

Заведующий кафедрой урологии
с курсом урологии с клиникой ФГБОУ ВО
«ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»

Минздрава России
д.м.н., профессор



С.Х. Аль-Шукри



197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8,
тел. 8(812) 338-78-95, e-mail: info@1spbgmu.ru; <https://www.1spbgmu.ru/ru/>