

Заключение диссертационного совета 24.1.158.01
на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и
высшего образования Российской Федерации по диссертации на соискание
ученой степени кандидата наук

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 09 ноября 2021 г. № 151.

О присуждении Доценко Анне Андреевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Патофизиологические и возрастные механизмы морфо-функциональных изменений сперматозоидов при бесплодии» по специальности 3.3.3 Патологическая физиология принята к защите 07 сентября 2021 г, протокол № 141 диссертационным советом 24.1.158.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Доценко Анна Андреевна, 1982 года рождения.

В 2008 году соискатель окончила Санкт-Петербургский государственный университет, получив степень магистра по направлению подготовки 540100 – Естественное образование. С 2004 по 2011 г. работала биологом Центра Планирования Семьи и Репродукции СПбГУЗ «Женская консультация №44» Пушкинского района. С 2012 г. работала биологом лаборатории клинической эмбриологии отделения вспомогательных репродуктивных технологий Городского центра лечения бесплодия на базе Санкт-Петербургского бюджетного учреждения здравоохранения Мариинской больницы, а с 2015 года по настоящее время – руководителем этой лаборатории. В 2012 году была прикреплена к отделу иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»

для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Тема диссертации была утверждена решением Ученого Совета ИЭМ 26 января 2012 года, протокол №1.

Диссертация выполнена в отделе иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор Полевщиков Александр Витальевич, заведующий отделом иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

1) Кветной Игорь Моисеевич, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, руководитель Центра молекулярной биомедицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

2) Линькова Наталья Сергеевна, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины Академии постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им Д.О. Отта» в своём положительном заключении, подписанном Гзгзяном Александром Мкртчичевичем, доктором медицинских наук, профессором, заведующим отделением вспомогательных репродуктивных технологий, и утверждённым директором ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом РАН Коганом Игорем Юрьевичем, указала, что

диссертационное исследование является самостоятельной законченной квалификационной научно-исследовательской работой, в которой содержится решение важной и актуальной задачи – изучению патофизиологических механизмов снижения жизнеспособности сперматозоидов человека и разработке нового метода объективной оценки жизнеспособности сперматозоидов.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в соответствующей сфере исследований, широкой известностью своими достижениями в рассматриваемой области медико-биологических наук.

Соискатель имеет 6 публикаций по теме диссертации, которые опубликованы в рецензируемых журналах рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций общим объемом 3,4 условного печатного листа, авторский вклад составил 70%. **Получен патент РФ** Доценко А.А., Кудрявцев И.В., Серебрякова М.К., Полевщиков А.В. "Способ определения жизнеспособности сперматозоидов человека", Патент №2689791 от 29.05.2019 г.

Диссертация не содержит некорректных заимствований.

Наиболее значимые работы, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. **Доценко А.А., Полевщиков А.В.** Влияние иммунохимических показателей семенной плазмы на способность сперматозоидов к оплодотворению // Росс. аллерг. журнал. - 2013.- №2, ч.2.- С. 89- 91.
2. **Доценко А.А., Полевщиков А.В.** Значение комплексной оценки уровней антимюллеровского гормона, интерлейкина-8 и С3 компонента комплемента в семенной плазме для прогнозирования способности сперматозоидов к оплодотворению // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5. – С.138-146; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25386>
3. **Серебрякова М.К., Доценко А.А., Кудрявцев И.В, Полевщиков А.В.** Скрининг панели лектинов для оценки стадий апоптоза тимоцитов мыши //

Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 3. – С. 57–70.

<https://doi.org/10.17816/MAJ19357-70>

4. **Доценко А.А.**, Серебрякова М.К., Кудрявцев И.В., Сухачев А.Н., Полевщиков А.В. Сравнение цитометрических методов оценки жизнеспособности нативных и криоконсервированных сперматозоидов человека // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 83–92. <https://doi.org/10.17816/MAJ19286>

5. **Dotsenko A.A.**, Polevshchikov A.V. Pathophysiological and age-specific mechanisms of morpho-functional changes in spermatozoa in infertility // Медицинский академический журнал. – 2020. – Т. 20. – № 4. – С. 17–26. <https://doi.org/10.17816/MAJ58099>

6. **Доценко А. А.**, Серебрякова М. К., Кудрявцев И. В., Полевщиков А. В. Возрастные изменения спермограммы и оплодотворяющей способности сперматозоидов у лиц 26-47 лет // Успехи геронтологии. – 2021. – Т. 34. - № 1 – С. 96 – 101. <https://doi.org/10.34922/AE.2021.34.1.013>

На автореферат поступили отзывы от:

1. Мусаходжаевой Дилорам Абдуллаевны, доктора медицинских наук, профессора, заведующей лабораторией иммунологии репродукции Института иммунологии и геномики человека Академии Наук Республики Узбекистан

2. Маркеловой Елены Владимировны, доктора медицинских наук, профессора, заведующей кафедрой нормальной и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

3. Сотниковой Натальи Юрьевны, доктора медицинских наук, профессора, заведующей лабораторией клинической иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

4. Шурыгиной Оксаны Викторовны, доктора медицинских наук, доцента, профессора кафедры гистологии и эмбриологии Федерального

государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

5. Колесниковой Натальи Владиславовны, доктора биологических наук, профессора кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики Кубанского государственного медицинского университета

6. Веюковой Марии Александровны, кандидата биологических наук, руководителя лаборатории ВРТ Российско-финской клиники «Сканферт»

7. Плеховой Натальи Геннадьевны, доктора биологических наук, заведующей Центральной научно-исследовательской лаборатории Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Отзывы положительные, принципиальных критических замечаний и вопросов не содержат.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

доказано снижение мембранного потенциала митохондрии сперматозоида, выявленное с помощью красителя DIOC₆(3), которое быстро приводит к утрате части структур гликокаликса сперматозоидов, уменьшению заряда на нем и открытию манноза-содержащих углеводов, лежащих в нижних слоях гликокаликса всех животных клеток. Открывающиеся на этой стадии раннего апоптоза манноза-терминальные структуры выявляются с помощью манноза-специфичного лектина нарцисса желтого, на применении которого основан новый запатентованный метод оценки жизнеспособности сперматозоидов человека. **Изложены доказательства** того, что в возрастном интервале 26 – 47 лет энергетический потенциал сперматозоидов ежегодно снижается на 1%, а их оплодотворяющая способность – на 2%. Снижение энергетической функции митохондрии сперматозоида всегда сопровождается появлением на мембране клетки манноза-терминальных углеводов. **Выявлены** аналогичные изменения при криоконсервации сперматозоидов, после которой жизнеспособность

мужских гамет и их оплодотворяющая способность падают примерно в 2 раза вне зависимости от состава и свойств консервирующих сред и всегда связаны со снижением функции митохондрии сперматозоида и изменениями в его гликокаликсе. **Показана** зависимость вероятности оплодотворения от уровня С3 компонента комплемента в семенной плазме: вероятность оплодотворения была тем ниже, чем ниже был уровень С3. **Подтверждена** важная роль С3 компонента комплемента в процессе оплодотворения и **установлена** его возможная функция в патогенезе мужского бесплодия, связанная с опсонизацией сперматозоидов, находящихся в позднем апоптозе. **Раскрыто, что** опсонизация нежизнеспособных клеток повышает концентрацию полноценных клеток и приводит к повышению вероятности оплодотворения на 0,17% при росте концентрации жизнеспособных клеток на 1 млн в 1 мл эякулята

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: **доказана выдвинутая гипотеза** о последовательности альтерации сперматозоидов, ведущей к развитию мужской инфертильности. **Доказано**, что первым событием, свидетельствующим о снижении оплодотворяющей способности спермиев, является изменение состава их гликокаликса, сопряженное с изменением заряда мембраны и состоянием распознающего аппарата спермия. Эти изменения выявляются лектином нарцисса желтого (NPA). **Показано**, что вторым событием по времени проявления, но не по времени начала процесса, запускающим каскад структурных и функциональных изменений сперматозоида, является разрушение структуры хроматина, что выявляется при окрашивании Родамином-123. Практически одновременно с разрушением хроматина проявляется снижение мембранного потенциала митохондрии спермия, что ведет к выраженному уменьшению его подвижности и оплодотворяющей способности и выявляется при окрашивании красителем DiOC₆(3). Наконец, разрушение структуры хроматина и снижение уровня продукции АТФ в митохондрии сопровождается снижением внутриклеточного транспорта и угнетением функции акросомы, которая является специализированной лизосомой, сформированной в аппарате

Гольджи. Это изменение, выявляемое при окрашивании красителем SYTO16 green, резко ослабляет способность спермия к пенетрации, что равносильно утрате его способности к оплодотворению. Также **доказано** отсутствие прямой зависимости между концентрациями в семенной плазме провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, значимых для клиники инфекционно-воспалительных заболеваний уrogenитального тракта, а также антимюллеровского гормона, недостаток которого важен для клиники ряда врожденных и возрастных случаев мужского бесплодия, и оплодотворяющей способностью сперматозоидов при экстракорпоральном оплодотворении.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработан новый объективный автоматизированный метод оценки жизнеспособности сперматозоидов человека, основанного на использовании манноза-специфичного меченого лектина луковиц Нарцисса желтого (*Narcissus pseudonarcissus* L.) с использованием проточной цитометрии. **Подтверждена** обоснованность результатов классической спермограммы и их пригодности для построения прогноза успешности экстракорпорального оплодотворения, а также **установлена** линейная зависимость между концентрацией сперматозоидов в эякуляте и их жизнеспособностью. **Проведён** анализ влияния различных сред для криоконсервации на жизнеспособность спермиев после процедуры замораживания-оттаивания, который **показал** предпочтительный характер использования модифицированной среды Квина для данной процедуры. **Получены** данные о необходимости учета возраста пациентов при выборе сред для консервации сперматозоидов.

Оценка достоверности результатов выявила, что: результаты **экспериментальных работ** получены на современном сертифицированном оборудовании, с использованием методов, адекватных поставленным задачам; **теории и идеи**, изложенные в работе, основаны на анализе экспериментальных данных, полученных автором, и их сравнении с результатами отечественных и мировых исследований, а также анализе существующих представлений и гипотез по рассматриваемым вопросам; **установлено** количественное

соответствие ряда полученных данных результатам, представленным в независимых отечественных и зарубежных источниках по данной тематике; **использованы** адекватные современные методы сбора и обработки исходной информации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационной работы: подборе и анализе литературы, отражающей современное состояние выбранной области исследования, составлении плана экспериментальных исследований, и их выполнении, статистической обработке, интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по выполненной работе и апробации её результатов на всероссийских и международных конференциях.

На заседании 9 ноября 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Доценко А.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 13 докторов наук (7 д.б.н. и 6 д.м.н.) по специальности 3.3.3 Патологическая физиология, из 32 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

за – 22, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета
д.б.н., чл.-корр. РАН



Handwritten signature of O.V. Shamova

Шамова О.В.

Ученый секретарь диссертационного совета
д.б.н., доцент

Handwritten signature of G.M. Alechina

Алешина Г.М.

9 ноября 2021 г.