

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора медицинских наук, профессора Галимова Шамиля Наримановича на  
диссертационную работу Иштулина Артема Федоровича на тему:  
«Взаимосвязь биохимических показателей спермоплазмы с подвижностью  
сперматозоидов у пациентов с бесплодием», представленную в  
диссертационный совет 21.2.060.02 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава  
России на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по  
специальности 1.5.4 Биохимия

### **Актуальность темы исследования**

Бесплодие является одной из важнейших глобальных проблем современного общества, в частности, распространенность этой патологии у мужчин составляет около 7%. Во многих случаях этиология бесплодия неизвестна, но часто к его развитию приводят хронические воспалительные заболевания и варикоцеле. При данных заболеваниях наблюдается снижение качественных и количественных показателей спермы. В связи с этим актуален поиск новых биохимических маркеров эякулята для ранней диагностики нарушения мужской фертильности, применение которых в настоящее время ограничено.

К таким биохимическим маркерам можно отнести определение в спермоплазме витамина В<sub>12</sub>, гомоцистеина, катепсинов, конечных метаболитов оксида азота. На решение данных проблем и было направлено диссертационное исследование Иштулина Артема Федоровича, что обуславливает его высокую научную значимость и актуальность.

### **Анализ решенных задач**

Автором в ходе выполнения диссертационного исследования была сформулирована цель – изучить взаимосвязи между биохимическими показателями спермоплазмы и подвижностью сперматозоидов у пациентов с

хроническим простатитом IIIВ /синдромом хронической тазовой боли (ХП/СХТБ) и варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией, сопровождающихся бесплодием.

Для реализации этой цели автор ставит перед собой следующие задачи: оценить концентрацию витамина В<sub>12</sub> и гомоцистеина, количество карбонилированных белков и конечных метаболитов оксида азота, изучить активность катепсинов В, L, Н в спермоплазме пациентов с ХП/СХТБ и варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией, ассоциированными с бесплодием. Оценить взаимосвязи между подвижностью сперматозоидов и концентрацией витамина В<sub>12</sub>, гомоцистеина, карбонилированных белков, активностью цистеиновых катепсинов (В, L, Н) в спермоплазме пациентов с ХП/СХТБ и варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией, сопряженными с бесплодием.

Успешное решение в ходе выполнения диссертационной работы поставленных соискателем задач позволили реализовать цель исследования и сформулировать обоснованные выводы.

### **Анализ научной новизны и достоверности результатов исследования**

Научная новизна диссертационной работы подтверждается тем, что впервые исследована активность цистеиновых протеиназ (катепсинов В, L, Н) в спермоплазме пациентов с ХП/СХТБ и с варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией. В ходе исследования впервые в мировой лабораторной практике была определена концентрация витамина В<sub>12</sub> и гомоцистеина в спермоплазме пациентов с названной патологией. При определении уровня окислительной модификации белков спермоплазмы пациентов с ХП/СХТБ и пациентов с варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией отмечалось нарастание уровня ранних и поздних маркеров окислительной деструкции белка, что может иметь



определенное патогенетическое значение в развитии нарушений оплодотворяющей способности эякулята.

Достоверность и надежность результатов диссертационной работы Иштулина А.Ф. обеспечена выполнением достаточного объема исследований и применением адекватных методов статистической обработки данных, что позволяет корректно интерпретировать полученные результаты.

### **Анализ теоретической и практической значимости**

Представленные в работе данные позволяют установить взаимосвязь между биохимическими показателями спермоплазмы и подвижностью сперматозоидов при ХП/СХТБ и варикоцеле II/III степени с сопутствующей астенозооспермией, что может быть использовано для совершенствования диагностики этих распространенных заболеваний мужской репродуктивной сферы.

### **Объем и структура работы**

Диссертационная работа включает в себе регламентированные ГОСТ 7.0.11-2011 основные структурные элементы и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы.

Во введении дано развернутое обоснование актуальности темы, указаны цель и задачи, научная новизна, научно-практическая значимость исследования, изложены основные положения, выносимые на защиту.

Анализ глав диссертации. В первой главе представлен обзор отечественной и зарубежной литературы, в который вошло 242 как отечественных, так и зарубежных источника. Изложены имеющиеся в литературе современные представления об участии витамина В<sub>12</sub>, гомоцистеина, цистеиновых катепсинов В, L, Н в ключевых биохимических процессах, их роль в регуляции гомеостаза и метаболических процессов в мужской репродуктивной системе.

Во второй главе дана характеристика пациентов с ХП/СХТБ и варикоцеле II-III степени с сопутствующей астенозооспермией. Обследуемые в процессе исследования были разбиты на три группы в соответствии с критериями включения и исключения: в первую, группу сравнения, вошли мужчины с нормозооспермией без нарушения репродуктивной функции, во вторую – пациенты с ХП/СХТБ и астенозооспермией, в третью – пациенты с варикоцеле II и III степени и астенозооспермией.

В этом же разделе подробно описаны материалы и методы, используемые в биохимических исследованиях: методики определения концентрации витамина В<sub>12</sub>, гомоцистеина, активности катепсинов, оценка показателей оксидативного/нитрозативного стресса, степени окислительной модификации белков и определения концентрации конечных метаболитов оксида азота.

В третьей главе диссертации приведены результаты собственных исследований. Было показано, что заболевания репродуктивной системы: ХП/СХТБ и варикоцеле, сопровождаются разнонаправленными изменениями уровня витамина В<sub>12</sub> и гомоцистеина, а именно уменьшением концентрации витамина В<sub>12</sub> и повышением гомоцистеина на фоне снижения активности лизосомальных цистеиновых протеиназ – катепсинов типов В, L и Н в семенной плазме.

Также было установлено, что выявленные особенности метаболического статуса при ХП/СХТБ и варикоцеле влекут за собой изменения процессов окислительной модификации белков эякулята (ОМБ), что нашло отражение в прогрессирующем нарастании уровня ранних и поздних маркеров их окислительной деструкции – альдегиддинитрофенилгидразонов (АДНФГ) и кетондинитрофенилгидразонов (КДНФГ) нейтрального и основного характера, соответственно.

Комплексный подход к решению поставленных в настоящей работе задач обеспечивается также широким использованием дополнительных расчетных показателей, например, анализа изменений резервно-адаптационного



потенциала спермоплазмы (РАП) по соотношению спонтанной и металл-катализируемой ОМБ. По данным автора, величина этого показателя, как критерия адаптации к окислительному стрессу, у пациентов 2 и 3 групп значительно снижалась, на основании чего сделано правомерное заключение об истощении резервных возможностей организма и возникновении предпосылок для избыточной активации окислительных процессов.

Автору также удалось продемонстрировать особенности окислительного и нитрозативного статуса спермоплазмы у пациентов 2 и 3 групп. Так, у всех обследованных было обнаружено повышение уровня карбонилированных белков, в то же время статистически значимый прирост концентрации конечных метаболитов оксида азота был характерен только для больных с варикоцеле II и III степени и сопутствующей астенозооспермией, что может быть использовано для дифференциальной диагностики наиболее распространенных форм репродуктивной патологии у мужчин.

Отдельный блок работы посвящен анализу системы цистеиновых катепсинов В, L, Н в спермоплазме у пациентов с ХП/СХТБ и варикоцеле II/III степени с сопутствующей астенозооспермией, состояние которой во многом определяет большинство физико-химических характеристик эякулята. Согласно представленным данным, активность этой ферментативной системы статистически значимо уменьшалась, что может сопровождаться патологией процессов протеолиза и вносить весомый вклад в снижение мужской фертильности.

Обнаружены также многочисленные корреляционные взаимосвязи различной направленности и степени выраженности между морфокинетическими параметрами сперматозоидов и большинством изученных анализов спермоплазмы у пациентов с ХП/СХТБ и варикоцеле II/III степени с сопутствующей астенозооспермией: концентрацией витамина В<sub>12</sub>, гомоцистеина, активностью катепсинов В, L и Н, уровнем конечных продуктов оксида азота, что подчеркивает патогенетическую роль нарушения их метаболизма в развитии инфертильности.

Анализ выводов. Выводы диссертационного исследования Иштулина А.Ф. обоснованы и четко сформулированы, полностью соответствуют задачам и логически вытекают из анализа результатов исследования.

Следует также отметить несомненную научно-практическую значимость диссертационной работы, в первую очередь, для разработки методов диагностики мужского репродуктивного статуса с помощью идентификации новых информативных биомаркеров фертильности.

По материалам исследования опубликовано 11 научных работ, полно отражающих основное содержание диссертации. Фрагменты диссертационного исследования были представлены на научно-практических конференциях.

### **Замечания по диссертации**

Принципиальные замечания к диссертации Иштулина А.Ф. отсутствуют. Тем не менее, на мой взгляд, следовало сделать развернутое заключение по результатам исследования, а не ограничиться пятью страницами текста, тем более что получен обширный фактический материал, достойный подробного обсуждения и осмысления.

К диссертанту возникли следующие вопросы:

1. Почему для определения содержания белка в спермоплазме был использован биуретовый метод, а не метод Лоури или Бредфорда. Поясните также, пожалуйста, почему активность катепсинов выражалась не в пересчете на концентрацию белка, а в нмоль/ч×л?
2. Уточните, пожалуйста, роль и место гомоцистеина в развитии окислительного стресса сперматозоидов при хроническом простатите и варикоцеле?
3. Метаболизм гомоцистеина тесно связан не только с кобаламинами, но и с другими витаминами, например, фолатами и пиридоксином. Почему в своей работе вы ограничились определением только витамина В<sub>12</sub>?



