

## **ОТЗЫВ**

### **ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

профессора кафедры биохимии и молекулярной биологии Института фармации и медицинской химии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации доктора медицинских наук, профессора Давыдова Вадима Вячеславовича на диссертационную работу Иштулина Артема Федоровича на тему: «Взаимосвязь биохимических показателей спермоплазмы с подвижностью сперматозоидов у пациентов с бесплодием», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия

#### **Актуальность темы исследования**

Мужское бесплодие представляет собой одну из глобальных проблем современного общества, выступая в роли одной из основных причин появления негативных тенденций в демографической ситуации в стране. Важное значение в его возникновении имеют хронические воспалительные заболевания предстательной железы и варикоцеле, приводящие к нарушению качества спермы. Эффективность лечения мужского бесплодия во многом определяется своевременностью постановки диагноза. В связи с этим особую актуальность приобретает поиск ранних биохимических маркеров нарушения мужской фертильности. Принимая во внимание перспективность изучения данной проблемы, автор четко определил цель диссертационного исследования, связанную с оценкой влияния витамина В<sub>12</sub> и гомоцистеина во взаимосвязи с активностью цистеиновых катепсинов и показателями окислительного стресса на подвижность сперматозоидов у пациентов с хроническим простатитом/ синдромом хронической тазовой боли (ХП/СХТБ) и варикоцеле, сопровождающихся бесплодием.

#### **Научная новизна исследований и полученных результатов**

Диссертационное исследование Иштулина А.Ф. обладает высокой научной новизной. В нем впервые установлен факт снижения концентрации витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме у пациентов с ХП/СХТБ с сопутствующей астенозооспермией и варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией, а также повышения содержания гомоцистеина в спермоплазме пациентов обеих исследованных групп больных. При изучении окислительной модификации белков спермоплазмы пациентов с ХП/СХТБ с

сопутствующей астенозооспермией и пациентов с варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией автор выявил нарастание уровня ранних и поздних маркеров окислительной деструкции белка.

В диссертационном исследовании Иштулина А.Ф. была впервые исследована активность цистеиновых протеиназ (катепсинов В, L, Н) в спермоплазме пациентов с ХП/СХТБ, а также у пациентов с варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией. Установлено значимое снижение активности данных ферментов у пациентов обеих исследованных групп. При этом было показано, что активность цистеиновых катепсинов В, L, Н у пациентов с ХП/СХТБ с сопутствующей астенозооспермией выше, чем у пациентов с варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией.

### **Научная и практическая значимость полученных результатов**

Представленные в диссертационном исследовании результаты имеют важное практическое значение для раннего выявления нарушений фертильности у мужчин с урологическими заболеваниями. Для прогнозирования и оценки степени риска снижения мужской фертильности, автор впервые предложил использовать определение содержания в спермоплазме витамина В<sub>12</sub>, гомоцистеина и активности катепсинов В, L и Н, а также, в дополнение к тому, состояние окислительной модификации белков спермоплазмы.

Результаты исследования, изложенные в диссертации, внедрены в учебный процесс и используются при обучении студентов на кафедре биологической химии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, а также в практику медицинского центра «Гармония» в городе Рязани.

### **Общая оценка использованных методов, степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Детальный анализ отечественной и зарубежной литературы позволил автору составить объективное представление о состоянии изучаемой проблемы, а также определить цель и задачи исследования.

Для достижения поставленной цели был использован широкий спектр современных биохимических исследований. Среди них количественное определение в спермоплазме витамина В<sub>12</sub>, гомоцистеина и конечных стабильных метаболитов оксида азота, которое приводилось с помощью метода ИФА, а также изучение окислительной модификации белков спектрофотометрическим методом. Для оценки устойчивости системы к



свободнорадикальному воздействию проводился анализ резервно-адаптационного потенциала. Активность катепсинов В, L, Н изучалась с использованием спектрофлуориметрического метода.

Достоверность научных положений и выводов, а также степень их обоснованности в полной мере подтверждается данными статистической обработки и сомнения не вызывает.

Выводы корректны, логично вытекают из полученных результатов и полностью соответствуют сформулированным задачам исследования. Практические рекомендации опираются на данные проведенных лабораторных исследований.

Полученные результаты широко апробированы на многочисленных Всероссийских и Международной конференциях и в полной мере отражены в 11 печатных работах, из которых 5 – в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата медицинских наук и 1 – в издании, входящем в международную библиографическую базу данных Scopus.

### **Содержание работы, ее завершенность и оформление**

Диссертационная работа построена в традиционном стиле. Она состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, а также списка литературы, включающего 242 источника. Диссертация изложена на 124 страницах машинописного текста, иллюстрирована 9 таблицами и 44 рисунками.

Во введении автор последовательно и подробно раскрывает актуальность темы исследования, формулирует его цель и задачи, описывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методы исследования, представляет основные положения, выносимые на защиту и сведения об апробации полученных результатов. В дополнение к тому, в этом разделе диссертации представлена информация о личном вкладе автора, его публикациях по теме исследования.

В обзоре литературы Иштулин А.Ф. квалифицированно излагает современные представления об участии витамина В<sub>12</sub>, гомоцистеина и цистеиновых катепсинов В, L, Н, а также оксида азота в обменных процессах. Особое внимание автор уделяет окислительному стрессу и его влиянию на состояние мужской фертильности.

В главе «Материалы и методы исследований» детально описан дизайн исследований и представлена характеристика групп обследуемых. В ней подробно описываются биохимические методы, использование которых позволило диссертанту адекватно подойти к решению поставленных в работе задач, а также методы статистического анализа.

В третьей главе приведены результаты собственных исследований и их обсуждение. В ней автор убедительно показывает, что у пациентов ХП/СХТБ и варикоцеле имеет место снижение концентрации витамина В<sub>12</sub>, повышение уровня гомоцистеина, снижение активности лизосомальных цистеиновых протеиназ-катепсинов В, L и Н в спермоплазме. Все эти изменения протекают на фоне усиления окислительной модификации белков. Тщательно проведенный статистический анализ результатов, позволил выявить положительную корреляционную взаимосвязь между подвижностью сперматозоидов и содержанием витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме у пациентов с ХП/СХТБ с сопутствующей астенозооспермией, а также между подвижностью сперматозоидов и количеством витамина В<sub>12</sub> в спермоплазме у пациентов с варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией. В тоже время между содержанием гомоцистеина в спермоплазме и подвижностью сперматозоидов у обеих обследуемых групп больных была установлена выраженная отрицательная корреляционная связь. Помимо этого, выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь между концентрацией витамина В<sub>12</sub> и гомоцистеина в спермоплазме у пациентов с ХП/СХТБ с сопутствующей астенозооспермией, а также у пациентов с варикоцеле II и III степени с сопутствующей астенозооспермией.

В Заключение автор дает общую оценку полученных результатов и высказывает предложение о возможности использования тестов, связанных с определением содержания витамина В<sub>12</sub> и гомоцистеина, а также активности катепсинов В, L, Н в спермоплазме в качестве ранних маркеров в диагностике мужской фертильности.

На основании полученных результатов сформулированы 4 вывода, которые в полной мере соответствуют задачам исследования и логически вытекают из представленных результатов.

Содержание автореферата в полной мере отражает основные положения диссертации.

### **Замечания по диссертации**

В работе встречаются многочисленные некорректные выражения, которые вызывают вопросы к автору. В их числе:

В цели работы автор указывает на «...оценку особенностей влияния метаболизма витамина В<sub>12</sub>...» Но остается непонятным, какие особенности



метаболизма этого витамина исследовались? И почему тогда результаты этих исследований не внесены в текст диссертации?

С.41 «В пермеабиллизации мембран могут участвовать...». Разве не существует принятого русскоязычного синонима использованного термина? Ведь диссертация написана на русском языке!

В 1 выводе автор многозначительно указывает «Выявлены особенности биохимического статуса...?» Выводы следует писать более конкретно. Остается неясным, что автор вкладывает в понятие о «биохимическом статусе»?

Из вывода 3 следует: «Установлено снижение активности лизосомальных цистеиновых протеиназ В, L, Н в спермоплазме, что может свидетельствовать об изменении параметров микроокружения...». О каких параметрах микроокружения ведется речь? Какие из них были исследованы в работе? Речь идет о рН? Но в диссертации не обсуждаются сведения о состоянии этого этого показателя!

В порядке дискуссии хотелось бы получить диссертанта ответ по следующим возникшим при рецензировании вопросам:

1. В тексте диссертации Вы указываете, что ингибирование синтеза окиси азота гомоцистеином сопровождается возникновением окислительного стресса? Как с Вашей точки зрения — это можно объяснить?

2. В материалах диссертации неоднократно встречается указание о возможной антиоксидантной роли оксида азота (с.80). Но ведь известно, что этот метаболит может выступать в качестве источника такого мощного проксиданта, как гидроксильный радикал! С этим связано его участие в инициации окислительного стресса. С чем, по Вашему мнению, связаны его антиоксидантные свойства?

3. При оценке предлагаемых Вами биохимических маркеров ранней диагностики нарушений мужской фертильности, Вы сравниваете их с показателем, характеризующим подвижность сперматозоидов. Возникает вопрос, в чем преимущество использования предлагаемых биохимических маркеров перед этим сравнительно просто определяемым показателем?

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Возникающие вопросы к изложенным в диссертации материалам ни в коей мере не снижают ее высокой научно-практической ценности. Более того, они указывают на возможные перспективы продолжения исследований в данном направлении.

### **Заключение**

Диссертация Иштулина Артема Федоровича «Взаимосвязь

биохимических показателей спермоплазмы с подвижностью сперматозоидов у пациентов с бесплодием», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, связанной с оценкой роли сдвигов в содержании витамина В<sub>12</sub>, гомоцистеина и активности цистеиновых катепсинов в спермоплазме в возникновении мужского бесплодия у больных с хроническим простатитом/синдромом хронической тазовой боли и варикоцеле.

По объему, степени достоверности результатов исследования, научной новизне, изложению и оформлению, диссертация в полной мере соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Иштулин Артем Федорович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

**Официальный оппонент:**

доктор медицинских наук (03.01.04 – Биохимия),  
профессор, профессор кафедры биохимии и молекулярной  
биологии Института фармации и медицинской химии  
ФГАОУ ВО «Российский национальный  
исследовательский медицинский университет  
имени Н.И.Пирогова» Минздрава России

«01» 02 2024 г.

Давыдов В.В.

Подпись д.м.н., профессора В.В. Давыдова заверяю:

Ученый секретарь ученого Совета  
ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»  
Минздрава России,  
к.м.н., доцент

«01» 02 2024 г.



Демина О.М.

**Контактная информация:**

Давыдов Вадим Вячеславович, д.м.н., профессор  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России  
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1  
Тел.: 8 (985) 044-63-02  
E-mail: vaddavydov@mail.ru