

УТВЕРЖДАЮ;

Ректор ГБОУ ВПО Астраханский

государственный медицинский университет

Минздрава России,

доктор медицинских наук, профессор

Х.М.ГАЛИМЗЯНОВ

«17» декабря 2015 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Астраханский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация «ПРОТЕОГЛИКАНЫ И ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНЫ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ САМЦОВ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРИРОДНЫХ ТОКСИКАНТОВ» выполнена на кафедре химии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Астраханский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель ВЕТОШКИН РОМАН ВАЛЕРЬЕВИЧ работал в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования "Астраханская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации в должности старшего лаборанта кафедры общей и биоорганической химии.

В 2004 г. окончил государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Астраханская государственная

медицинская академия" Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по специальности «лечебное дело».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2013 г. государственным бюджетным образовательным учреждением высшего профессионального образования "Астраханская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор Николаев Александр Аркадьевич, заведующий кафедрой химии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Астраханский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность проблемы

В настоящее время в мире отмечается отчетливая тенденция снижения количественных и качественных характеристик спермы человека [Николаев А. А. и др., 2003, Murray K. S 2012]. Рост субфертильности мужчин, основан на множестве причин эндогенного и экзогенного происхождения среди которых высока роль загрязнений окружающей среды агрессивными поллютантами [Евдокимов В. В. и др., 2002, Тиктинский О. Л., 2000, MacLeod J., 2003, McLaughlin E. A., 2000, Adamopoulos D. A. et al., 1997]. Неблагополучная экологическая ситуация в Нижнем Поволжье обусловлена комплексом антропогенных и техногенных факторов, это требует проводить интенсивное изучение воздействия агрессивных экологических факторов на биологические объекты [Brillard-Bourdet M. 2015, Rehault S., Juliano L. et al. 2012].

Природный газ Астраханского газоконденсатного месторождения, различные его компоненты и их дериваты занимают одну из центральных

позиций в комплексе агрессивных экологических факторов, характерных для Нижнего Поволжья.

Одной из особенностей спермоплазмы человека является высокая концентрация протеогликанов – высокомолекулярных углеводно-белковых соединений. Они относятся к числу наиболее полно изученных биохимических компонентов тканей человека за исключением репродуктивной системы.

Степень личного участия соискателя в получении результатов исследования

Автором самостоятельно производились все действия связанные с монтажом и оборудованием затравочной камеры, содержание животных во время хронического эксперимента, вивисекция животных и забор биологического материала. Самостоятельно проведены экспериментальные исследования по очистке протеогликанов и гликозаминогликанов репродуктивной системы самцов крыс от стадии забора материала до полной очистки сочетанием препаративных биохимических методов и анализа хроматографическими, газохроматографическими и электрофоретическими методами. Автором разработана иммуноферментная система для определения гепаринсвязывающего белка репродуктивной системы крыс и проведен иммунохимический анализ биологического материала. Иммунизация и получение антисывороток от лабораторных животных, а также все этапы работы с лабораторными животными, выполнена автором самостоятельно. Автором лично проведен патентный поиск, написан обзор литературы, выполнено планирование исследований, анализ экспериментальных данных, составлены базы данных, После этого весь материал статистически обработан методами вариационной статистики с использованием компьютерных программ «STATISTIKA 6,0» и «Microsoft-Office Excel 2010» для «Windows 10», автором лично проведен анализ и интерпретация полученных результатов, их сопоставление с

литературными данными. Общий план работы, выводы и практические рекомендации на основе проведенных исследований сформулированы автором совместно с научным руководителем. Все научные результаты, выносимые на защиту, получены автором самостоятельно. Все разделы диссертационной работы написаны автором лично.

Соискателем самостоятельно написан текст диссертации, а также большинство публикаций по теме исследования (см. ниже). Личный вклад автора составляет 100% при получении результатов и 70% при оформлении публикаций по теме диссертации. Указанный вклад соответствует требованиям п. 8 для кандидатских диссертаций. в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 "О порядке присуждения ученых степеней".

Достоверность результатов исследования

Соискателем использованы современные, информативные и адекватные задачам методы исследования, позволившие получить достаточный объем экспериментального материала. Первичные материалы исследования (журналы с протоколами биохимических экспериментов с фотодокументацией проведенных хроматографических, электрофоретических и иммунохимических исследований, журнал с первичными результатами анализа протеогликанов и гликозаминогликанов, журнал иммунизации лабораторных животных, ксерокопии распечаток анализов, выполненных на автоматических биохимических анализаторах, , собранная литература по теме диссертации, оттиски опубликованных работ, результаты статистической обработки по программам Excel и Statistica в электронной версии) соответствуют общепринятым требованиям получения и оформления научных данных. Результаты исследования в целом грамотно обработаны статистически. Основные положения, выводы и рекомендации автора хорошо обоснованы логически и полностью вытекают из полученных фактов. Достоверность полученных результатов сомнений не

вызывает. Работа написана ясным литературным языком с использованием продуманных таблиц и иллюстраций.

Новизна результатов исследования

В обсуждаемой работе впервые:

1. исследовано состояние репродуктивной функции, качественный и количественный состав протеогликанов и гликозаминогликанов органов репродуктивной системы самцов крыс во время и после хронического воздействия малых доз природного газа Астраханского газоконденсатного месторождения (АГКМ);
2. показано, что хроническая интоксикация серосодержащим газом приводит к снижению синтеза протеогликанов эпидидимисов и семенников крыс, проявляющееся в уменьшении числа электрофоретических и хроматографических фракций протеогликанов и относительном увеличении доли кислых фракций, содержащих повышенное количество сульфатов;
3. проведен анализ углеводного компонента протеогликанов и гликозаминогликанов органов репродуктивной системы самцов крыс и показано, что под влиянием хронического воздействия серосодержащего газа уменьшается доля хондроитинсульфата и увеличивается доля кератансульфата в ткани семенников и придатков крыс;
4. очищен и исследован специфический протеогликан семенников и придатков крыс, который представляет собой высокомолекулярный хондроитинсульфат-белковый комплекс (245-260 KD) с электрофоретической подвижностью альфа-2 глобулинов (ПГА-2), содержащий коровий белок с молекулярной массой 62. KD и N-концевой аминокислотой лейцин;
5. получена моноспецифическая иммунохимическая тест-система на коровий белок ПГА-2, позволившая выявить достоверное снижение уровня этого протеогликана под влиянием интоксикации серосодержащим газом.

Практическая значимость работы

Практическое значение работы заключается в разработке системы комплексной лабораторной оценки токсического воздействия малых доз природного газа АГКМ на протеогликаны репродуктивной системы самцов, позволяющей выделять наиболее уязвимые этапы сперматогенеза.

Ценность научных работ соискателя

Изложенные в 11 научных работах соискателя факты существенно расширяют представления о влиянии хронической интоксикации серосодержащим газом на синтез протеогликанов эпидидимисов и семенников крыс, что может служить базой для дальнейших исследований в области биохимии репродукции; углубляют представления о биохимических механизмах развития мужского бесплодия и роли в этом процессе протеогликанов и гликозаминогликанов семенников и эпидидимисов самцов крыс, а также объясняют патогенез развития бесплодия вызванного токсическими поллютантами, что открывает новые возможности для прогнозирования этого состояния.

Специальность, которой соответствует диссертация

Диссертационная работа Р.В. ВЕТОШКИНА «ПРОТЕОГЛИКАНЫ И ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНЫ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ САМЦОВ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРИРОДНЫХ ТОКСИКАНТОВ» является законченным научно-квалификационным исследованием, содержащим новые научные положения о влиянии хронической интоксикации серосодержащим газом на синтез протеогликанов эпидидимисов и семенников крыс, проявляющееся в дисбалансе формирования электрофоретического и хроматографического профилей протеогликанов и сопровождается увеличением доли кислых фракций, содержащих повышенное количество сульфатов. Газохроматографический анализ показал, что под влиянием хронического

воздействия серосодержащего газа происходит изменение соотношения трех основных гликозаминогликанов. Уменьшается доля хондроитинсульфата и увеличивается доля кератансульфата, а также новые научно- обоснованные методические разработки в области биохимии (разработка метода выделения и очистки специфического протеогликана семенников и эпидидимисов самцов крыс и конструирование иммунохимического теста для ее определения), совокупность которых можно квалифицировать как новое решение актуальной научной задачи (анализа влияния природного газа Астраханского месторождения на протеогликаны и гликозаминогликаны органов репродуктивной системы самцов крыс и оценки изменения этих молекул на процессы сперматогенеза), имеющей существенное значение для биохимии. По своему содержанию диссертация полностью соответствует специальности 03.01.04 – биохимия.

**Полнота изложения материалов диссертации в работах,
опубликованных соискателем**

Основные результаты исследования достаточно полно отражены в 11 публикациях соискателя, изложенных на 25 страницах печатных изданий, работ в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России – 6.

Краткая характеристика работ (вид, количество, объем в страницах, творческий вклад соискателя в %): статьи в журналах – 7, 21с., 70%; из них в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, определённых Высшей аттестационной комиссией – 6, 11с., 80% («Астраханский медицинский журнал», «Проблемы репродукции», «Фундаментальные исследования»); учебно-методическое пособие – 0; материалы и тезисы центральных или международных форумов – 2, 2с., 40%; местные и региональные публикации – 4, 11с., 30%; работы, опубликованные самостоятельно или только с научным руководителем – 2.

Наиболее значимые работы - опубликованы в журналах, включенном Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий.

1. Ветошкин Р.В. Уровень сульфатов в протеогликанах семенников крыс в условиях экспериментальной хронической интоксикации серосодержащим газом./ Ветошкин Р.В, Николаев А.А.// Астраханский медицинский журнал – 2011-№2 – с.227-228
 2. Николаев А.А. Иммунохимический анализ протеогликанов семенников крыс./ Николаев А.А., Ветошкин Р.В., Логинов П.А. // "Фундаментальные исследования" 2011-№11, стр. 178-180
 3. Ветошкин Р.В. Влияние сероводородсодержащего газа Астраханского газового месторождения на биохимические показатели функционального состояния семенников белых крыс/ Ветошкин Р.В., Николаев А.А., Логинов П.В. Астраханский медицинский журнал – 2011-№2 – с.76-82
 4. Николаев А.А. Изменения гликозаминогликанов семенников крыс при экспериментальной хронической интоксикации серосодержащим газом./ Николаев А.А., Ветошкин Р.В., Логинов П.В. // Проблемы репродукции - 2012 -№2 С15-17.
 - 5 Ветошкин Р.В. Протеогликаны мужской репродуктивной системы. (обзор литературы)/ Ветошкин Р.В, Николаев А.А. // "Фундаментальные исследования" № 1 (часть 4) 2015, стр. 848-853.
 6. Николаев А.А. Участие свободных радикалов в функции сперматозоидов. /Николаев А.А., Логинов П.В., Ветошкин Р.В. // Астраханский медицинский журнал – 2014-№1 – с.23-29
- Диссертация «ПРОТЕОГЛИКАНЫ И ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНЫ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ САМЦОВ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРИРОДНЫХ ТОКСИКАНТОВ» ВЕТОШКИНА РОМАНА ВАЛЬРЬЕВИЧА рекомендуется к защите на соискание ученой

степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Заключение принято на совместном заседании кафедр химии; биологической химии; урологии и нефрологии; фармацевтической химии; анатомии человека; биологии и ботаники; фармакогнозии и фармацевтической технологии; медицинской биологии и генетики; нормальной физиологии с курсом экологии человека; общей гигиены; оперативной хирургии с топографической анатомией; патологической физиологии, патологической анатомии, урологии, акушерствагинекологии лечебного факультета, акушерства и гинекологии педиатрического факультета с курсом постдипломного образования, перинатологии с курсом сестринского дела, поликлинической педиатрии с курсом семейной медицины ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России.

Присутствовало на заседании 28 чел. Результаты голосования: «за» - 28 чел., «против» - нет чел., «воздержалось» - нет чел. Протокол № 17 от « 15 » декабря 2015 г.

Председатель заседания:
зав. кафедрой биологии и ботаники,
доктор медицинских наук, доцент



Б.В. Фельдман

Секретарь заседания:
доцент кафедры химии,
кандидат биологических наук

Л.Х. Гайнуллина

Подпись заверяю
Ученый секретарь ГБОУ ВПО
«Астраханский государственный
медицинский университет»
Минздрава России,
к.м.н., доцент Ничога В.Д.