

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе ФГБОУ
ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России, доктор биол. наук
_____ Д.В. Ребриков
« 1 » _____ 2016 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Ветошкина Романа Валерьевича «Протеогликаны и гликозаминогликаны репродуктивной системы самцов крыс при хроническом воздействии природных токсикантов», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 - биохимия

Актуальность темы исследования

Репродуктивная функция мужчин, по данным многочисленных исследований, в последние десятилетия значительно снижается. Это вызвано множеством причин эндогенного и экзогенного происхождения, среди которых высока роль загрязнений окружающей среды агрессивными поллютантами.

Сероводородсодержащий газ Астраханского газоконденсатного месторождения имеет очень высокое содержание сероводорода – 24 % и содержит также метилмеркаптан и сероуглерод. Поэтому сероводородсодержащий газ АГМК занимает важное место среди вредных поллютантов Нижнего Поволжья.

Активно изучается канцерогенное действие, мутагенность, эмбриотоксичность этого токсического агента. Но мало интересуются исследованием влияния сероводородсодержащего газа на морфо-функциональное состояние репродуктивной системы, на процесс сперматогенеза, на формирование оплодотворяющей способности эякулята экспериментальных животных. Проблема бесплодия в условиях стагнации численности населения становится не только медицинской, но приобретает и социально-демографическую значимость.

Подобная недооценка действия экологических факторов обусловлена отсутствием доступной модели, позволяющей объективно и адекватно контроль над процессом сперматогенеза и изменением функции органов генеративной системы самцов экспериментальных животных.

Сходные протеогликаны содержатся в тканях, гомологичных по своему происхождению и подчиняются закону "биохимической гомологии". Они, как правило, тканеспецифичны, но не видоспецифичны. Каждый из протеогликанов выполняет свою обусловленную особенностью структуры функцию. Поэтому профили протеогликанов одних и тех же тканей имеют больше сходства у различных видов, чем протеогликаны различных органов одного вида. Это дает право считать исследования структуры ПГ уникальным критерием в токсикологических экспериментах, позволяющим, выявленные на животных изменения, экстраполировать на человека.

Указанное обстоятельство становится очевидным при рассмотрении репродуктивной системы как единого комплекса, в котором структурно-функциональный диссонанс между его отдельными компонентами приводит к нарушению результирующей функции. Поэтому исследование изменений протеогликанов и гликозаминогликанов репродуктивной системы под действием повреждающего фактора делает актуальной тему диссертационного исследования Ветошкина Р.В.

**Научная новизна исследования,
полученных результатов и выводов**

С помощью биохимических и цитологических методов исследования автором выявлены особенности репродуктивной функции, качественный и количественный состав протеогликанов и гликозаминогликанов репродуктивных органов самцов крыс вовремя и после хронического воздействия серосодержащего газа. Показано, что под влиянием хронического воздействия серосодержащего газа уменьшается доля хондроитинсульфата и увеличивается доля кератансульфата в ткани семенников и придатков крыс.

Впервые получены иммунохимические тест-системы на органоспецифические протеогликаны репродуктивной системы крыс. Разработан способ выделения и очистки корового белка (62KD) с электрофоретической подвижностью альфа-2 глобулинов, основанный на преципитации сульфатом аммония, гель-фильтрации и аффинной хроматографии на иммобилизованном гепарине.

Впервые экспериментально обоснованы и представлены пути коррекции сперматогенеза. Автором разработаны альтернативные приемы коррекции с использованием селенсодержащих веществ и сформулирован алгоритм коррекции репродуктивных процессов при токсическом воздействии.

Автором получен патент на изобретение: «Способ коррекции сперматогенеза у животных в условиях хронической интоксикации природным газом», зарегистрированный в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 27 апреля 2013 года № 2480221;

**Достоверность полученных результатов, выводов
и практических рекомендаций**

Диссертация выполнена на большом экспериментальном материале – в проводимых исследованиях задействовано 477 самцов белых крыс, проведено 5 серий экспериментов. Все полученные соискателем результаты

статистически обработаны и их достоверность не вызывает сомнений. Личное участие автора в подготовке диссертации подтверждается 1 патентом на изобретение и актами о внедрении.

Результаты диссертационной работы документированы полноценным количеством рисунков и таблиц, что облегчает восприятие материала. Выводы и практические рекомендации аргументированы, закономерно вытекают из представленного материала, отражают содержание диссертации и полностью соответствуют поставленным задачам.

Практическая значимость полученных результатов исследования определяется обеднением спектра протеогликанов и увеличение содержания сульфатов в них при хроническом воздействии серосодержащего газа. Анализ углеводного компонента протеогликанов показал, что под влиянием хронического воздействия серу содержащего газа уменьшается доля хондроитинсульфата и увеличивается доля кератансульфата в ткани семенников и придатков крыс.

Разработаны практические рекомендации к использованию селен содержащего лекарственного средства в условиях воздействия повреждающих факторов.

Новые сведения, полученные в ходе проведённого исследования, расширяют знания о функциональной активности протеогликанов семенников и придатков крыс.

Полученные данные могут найти применение в ряде медицинских и смежных с медициной отраслей таких как репродуктология. А также при преподавании биохимии, физиологии, акушерства и гинекологии, дерматовенерологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики.

Автореферат диссертации полностью отражает все основные положения и аспекты работы. Результаты диссертационного исследования прошли широкую апробацию на отечественных и международных

конференциях и симпозиумах. По результатам исследования опубликовано 11 печатных работ, в том числе 6 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Имеется патент на изобретение. Общий объем печатных работ 5,2 п.л. при авторском вкладе 4,8 п.л.

Общая оценка содержания работы

Диссертация включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, глава собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации и список литературы. Материалы диссертации изложены на 132 страницах машинописного текста, включая 21 таблицу и 18 рисунков. Список литературы состоит из 224 работ, из них 21 отечественных и 203 зарубежных авторов.

Во введении диссертации обоснована актуальность проводимого исследования, поставлена цель и задачи, направленные на изучение влияния сероводородсодержащего газа Астраханского месторождения на протеогликаны и гликозаминогликаны органов репродуктивной системы самцов крыс и оценку влияния изменения этих молекул на процессы сперматогенеза

В обзоре литературы проанализированы современные теоретические представления о структуре и свойствах протеогликанов животных тканей. Особенно подробно рассмотрены структурно-функциональные особенности протеогликанов репродуктивной системы самцов различных животных и человека.

Глава «Материал и методы исследования» дает представление об общей схеме исследования и применяемых методах. В таблицах в систематическом виде представлены проводимые экспериментальные серии. В данной главе указываются используемые в работе биохимические и цитологические экспериментальные методы. Необходимо подчеркнуть, что для исследований был подобран информативный арсенал методов,

адекватный поставленным задачам работы.

В «Результатах собственных исследований» излагаются экспериментальные данные, полученные автором при исследовании влияния хронического воздействия серосодержащего газа на репродуктивную систему самцов крыс и в частности на протеогликаны и гликозаминогликаны. Автором показана различная чувствительность звеньев сперматогенеза к воздействию поллютанта, самым лабильным оказалось образование сперматогоний-А. Хроническая интоксикация серосодержащим газом приводит к нарушению синтеза и созревания сперматозоидов, проявляющееся в дисбалансе формирования электрофоретического и хроматографического профиля ПГ и сопровождается его упрощением и увеличением доли кислых фракций. В условиях, когда повреждающий фактор оказывает своё негативное воздействие непосредственно на сперматогенез, эффективную коррекцию проявляет водорастворимый селенсодержащий биокомплекс.

Четвертая глава посвящена обсуждению полученных результатов. Автор обоснованно считает, что газ и его метаболиты оказывает негативное влияние на сперматогенез и на биохимические системы сперматозоидов. Природный сероводородсодержащий газ оказывает цитотоксическое действие, вызывающее гибель сперматогоний. Серосодержащий газ блокирует пополнение стабильного пула сперматогоний типа А, тормозит дифференцировку сперматид в сперматозоиды и процесс мейоза (скорее всего редукционное деление). Торможение мейоза, вероятно, связано с нарушением взаимодействия сперматогенного эпителия с регуляторными молекулами, не способными взаимодействовать с измененными протеогликанами внутриклеточного матрикса.

В этой главе автор проводит убедительный сравнительный анализ известных протеогликанов репродуктивных органов различных животных

и выделенного им ПГА-2. На основе сравнения молекулярной массы, электрофоретической подвижности и N-концевой аминокислоты можно полагать, что автором описан новый протеогликан.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Результаты проведенных соискателем исследований вносят вклад в понимание механизмов нарушения и регуляции репродуктивной системы мужского типа в условиях воздействия неблагоприятного экзогенного фактора. Исследования показали обеднение спектра протеогликанов и увеличение содержания в них сульфатов при хроническом воздействии серосодержащего газа. Анализ углеводного компонента протеогликанов показал, что под влиянием хронического воздействия серосодержащего газа уменьшается доля хондроитинсульфата и увеличивается доля кератансульфата в ткани семенников и придатков крыс.

Новые сведения, полученные в ходе проведенного исследования, расширяют знания о функциональной активности протеогликанов семенников и придатков крыс.

Полученные данные могут быть использованы в клинической практике и научных исследованиях в области репродуктологии. Разработаны практические рекомендации к использованию селенсодержащего биоконплекса. Запатентованы способы коррекции сперматогенеза в условиях хронической интоксикации природным газом, Имеются акты о внедрении результатов работы.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

Полученные результаты и выводы целесообразно использовать:

- для разработки профилактических мер в отношении лиц, имеющих контакт с неблагоприятными факторами среды;
- для разработки вспомогательных схем лечения с использованием селенсодержащих препаратов, обогащенных антиоксидантами;

- для оценки гонадотоксичности природных поллютантов;

Теоретические положения, сформулированные в диссертационном исследовании целесообразно использовать в качестве учебного материала при преподавании биохимии, физиологии, акушерства и гинекологии, дерматовенерологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики.

Данная работа имеет некоторые недостатки, которые, как правило, присутствуют в любом диссертационном исследовании. К ним относятся опечатки, отдельные погрешности стиля, неудачное оформление некоторых рисунков. Иные замечания могут носить дискуссионный характер.

Заключение.

Диссертация Ветошкина Романа Валерьевича «Протеогликаны и гликозаминогликаны репродуктивной системы самцов крыс при хроническом воздействии природных токсикантов» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи изучения влияния сероводородсодержащего газа Астраханского месторождения на протеогликаны и гликозаминогликаны органов репродуктивной системы самцов крыс имеющей значение для развития биохимии, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 - биохимия.

Отзыв на диссертационную работу Ветошкина Романа Валерьевича «Протеогликаны и гликозаминогликаны репродуктивной системы самцов крыс при хроническом воздействии природных токсикантов», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 - биохимия (медицинские науки) обсуждён на

заседании кафедры биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 3 от «26» августа 2016г.).

профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, д.м.н., профессор, член-корр. РАН



Терентьев Александр
Александрович

Подпись профессора Терентьева А.А. «удостоверяю»:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО РНИМУ
им. Н.И. Пирогова д.м.н., доцент

Милушкина О. Ю.

«29» августа 2016 г.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1
Адрес электронной почты: rsmu@rsmu.ru; Тел.: (495) 434-14-22