

**УТВЕРЖДАЮ:**

**Проректор по научной работе,  
ФГБОУ ВО «Самарского  
государственного медицинского  
университета Минздрава России  
доктор медицинских наук,  
профессор**



**Давыдкин Игорь Леонидович**

**20 23 г.**

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Сысоевой Анастасии Павловны на тему «Влияние внеклеточных везикул фолликулярной жидкости на морфофункциональные характеристики мужских половых клеток», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – Клеточная биология

#### **Актуальность темы исследования**

Диссертационная работа Сысоевой Анастасии Павловны выполнена на крайне актуальную как с теоретической, так и с практической точки зрения тему и затрагивает малоизученные в настоящее время вопросы межклеточного взаимодействия в репродуктивной системе человека. За последние несколько лет значительно возрос интерес к межклеточной коммуникации, поскольку растет понимание сложности ее вклада в различные процессы в организме человека, включая регуляцию пролиферации клеток, их дифференцировку, гамето- и эмбриогенез, а также множество патологических процессов. Обнаружение внеклеточных везикул в биологических жидкостях, в частности,

фолликулярной жидкости, указывает на их важную функциональную роль в клеточных взаимодействиях необходимых для зачатия и для последующего развития эмбриона. На экспериментальных животных моделях продемонстрировано, что внеклеточные везикулы, также, могут быть потенциальным инструментом, повышающим эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий.

Доказательные исследования в области клеточной биологии нельзя представить без современных метаболомных и молекулярно-генетических методов, с помощью которых в представленной работе были получены уникальные данные о влиянии внеклеточных везикул фолликулярной жидкости на функциональные характеристики сперматозоидов человека. Диссертационная работа А.П. Сыроевой проясняет многофакторность и сложность процессов, происходящих в репродуктивных путях женщины во время оплодотворения, которые в силу ряда этических и физиологических трудностей мало изучены на биологическом материале человека.

Изучение клеточных и молекулярных процессов взаимодействия мужских и женских гамет связано с перспективой значительно пополнить фундаментальные биологические знания о размножении человека, а также, с возможностью совершенствования эмбрионального этапа программ экстракорпорального оплодотворения. Исходя из вышеописанного, научное исследование А.П. Сыроевой, несомненно, является своевременной, актуальной и новаторской работой.

#### **Новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В диссертационном исследовании на достаточном объеме биологического материала автором впервые проведена оценка взаимодействия внеклеточных везикул фолликулярной жидкости со сперматозоидами человека *in vitro* и описано их влияние на подвижность, гиперактивацию и приобретение мужскими гаметам оплодотворяющей

способности. Впервые показано, что специфика и качество взаимодействия внеклеточных везикул и сперматозоидов напрямую зависит от возраста женщины, что дополняет понимание ухудшения репродуктивного потенциала с возрастом. Широко описанный метаболомный профиль внеклеточных везикул фолликулярной жидкости женщин разных возрастов также, дает возможность по-новому взглянуть как на возможные причины бесплодия, так и на разработку новых подходов для его лечения в клинической практике.

### **Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Объем исследованного материала, использование современных методов клеточного, морфологического и метаболомного анализа, использование соответствующих методов статистического исследования позволяет считать научные положения, выводы, теоретическую и практическую значимость, изложенные в кандидатской диссертации, достоверными и заслуживающими доверия. Диссертационная работа имеет качественные микрофотографии, информативное графическое представление результатов, дополняющие текст исследования, делая полученные результаты наглядными и доступными для понимания и внедрения в практику. Использованные в представленной диссертационной работе методы исследования являются современными и адекватными для решения поставленных задач. Благодаря использованию методов трансмиссионной электронной микроскопии и флуоресцентной микроскопии, автору удалось получить уникальные фотографии взаимодействия внеклеточных везикул фолликулярной жидкости с мембраной сперматозоидов человека в функционально значимых частях мужских половых клеток – акросомы и области шейки, а протеомные инструменты ведущих разработок клеточной и молекулярной биологии и усовершенствование процесса выделения внеклеточных везикул сделало возможным диссертанту идентифицировать многие биологически активные молекулы (белки, липиды, микроРНК) в составе внеклеточных везикул,

отвечающие за процессы оплодотворения у человека и улучшение функциональной активности мужских гамет.

Сформулированные А.П. Сысоевой выводы достоверны, полностью соответствуют поставленным задачам и логически следуют из полученных результатов в ходе исследования. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений.

Основные положения кандидатской диссертации неоднократно представлены на отечественных и зарубежных научных конференциях. На основе результатов исследования получено два патента.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Полученные результаты работы носят фундаментальный характер и расширяют имеющиеся представления о специфике оплодотворения человека, в том числе, активации мужских гамет и участии в этом многоэтапном процессе фолликулярной жидкости посредством внеклеточных везикул. Микрофотографии связывания везикул фолликулярной жидкости с функционально значимыми частями сперматозоидов и достоверное улучшение показателей их подвижности и гиперактивации после сокультивирования указывает на потенциально новые пути изучения биологии мужских гамет, а анализ состава и свойств внеклеточных везикул репродуктивных жидкостей организма может способствовать не только совершенствованию методов улучшения исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий, но и разработке молекулярных инструментов диагностики патологий репродуктивной системы.

### **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов работы**

Результаты, полученные в диссертационном исследовании А.П. Сысоевой целесообразно использовать в работе научно-исследовательских

лабораторий, занимающихся вопросами репродукции человека и изучением взаимодействия гамет. Также, рекомендовано ввести полученные фундаментальные биологические данные в клиническую практику лабораторий вспомогательных репродуктивных технологий для улучшения исходов эмбриологического этапа, а также, в образовательный процесс на курсах повышения квалификации клинических эмбриологов и при подготовке специалистов в области клеточной биологии. Учитывая потенциальную практическую ценность полученных результатов, рекомендуется продолжить изучение специфики этапов оплодотворения человека, как с точки зрения клеточной биологии, так и со стороны молекулярно-генетических подходов. Необходимо продолжать исследовать и анализировать метаболомный состав внеклеточных везикул фолликулярной жидкости для установления новых механизмов межклеточной коммуникации и разработки новых подходов в лечении бесплодия, приближенных к естественным условиям.

#### **Личный вклад соискателя**

Личный вклад автора заключался в планировании и проведении исследования, анализе результатов и адекватной их статистической обработке, а также обобщении и сравнении их с данными современной литературы, подготовке публикаций и выступлений. Основные положения диссертационной работы доложены на российских (РАРЧ-2021, 2022; «Мать и Дитя-2022»); «Лабораторные технологии в репродуктивной медицине и неонатологии: от науки к практике», ЛАБРИН-2022; Всероссийском конгрессе «Право на жизнь – 2023), на международных конференциях (КАРМ-2022, Астана) и на ежегодной европейской конференции по репродуктивной медицине ESHRE – 2022 (Милан, 2022) и в 2023 году в виде устного доклада на ESHRE – 2023 (Копенгаген, 2023).

По теме кандидатской диссертации опубликовано 5 печатных работ в рецензируемых журналах ВАК (3 статьи как первый автор, 2 в соавторстве),

получены два патента на изобретение (Патент № 2801339 и Патент № 2801117).

Диссертация построена по традиционному плану, имеет все необходимые разделы, написана хорошим литературным языком, текст изложен на 141 странице машинописного текста. Диссертация проиллюстрирована 32 рисунками, 3 таблицами. Библиографический указатель включает 124 научные работы российских и зарубежных источников.

Выводы диссертации логично вытекают из текста научной работы и соответствуют полученным результатам и задачам исследования. Автореферат и публикации в полной мере отражают основные положения диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 10 научных трудов, из них 5 статей в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук (3 статьи как первый автор, 2 в соавторстве), а также 5 публикаций в российских и зарубежных сборниках научных трудов. Зарегистрированы два патента (Патент № 2801339 от 07.08.2023 и Патент № 2801117 от 02.08.2023 года) на изобретение.

Принципиальных замечаний к работе нет. Есть несколько рекомендаций, в том числе для дальнейших исследований:

1. Данные по морфологии внеклеточных везикул фолликулярной жидкости целесообразно расширить, представив большее число микроэлектронных фотографий, поскольку представлена только округлая чашеобразная форма. Согласно последним литературным данным (Neuground et al., 2022), фенотип внеклеточных везикул фолликулярной жидкости гораздо разнообразнее.

2. Протеомные исследования необходимо продолжить и разграничить пациенток по возрасту и анамнезу, поскольку в работе представлены новые

уникальные данные по содержанию различных белков во внеклеточных везикулах фолликулярной жидкости.

### **Заключение**

Диссертационная работа Сысоевой Анастасии Павловны «Влияние внеклеточных везикул фолликулярной жидкости на морфофункциональные характеристики мужских половых клеток», выполненная под руководством доктора биологических наук Макаровой Н.П., является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная и своевременная научная задача: в экспериментах показано достоверное увеличение характеристик подвижности и гиперактивации сперматозоидов, а также подготовка к запуску акросомной реакции, после сокультивирования с внеклеточными везикулами фолликулярной жидкости. Описанное влияние везикул на функциональные характеристики сперматозоидов напрямую зависит от возраста женщины и их метаболомного профиля. Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии, эмбриологии и молекулярной биологии.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов представленная в ведущую организацию диссертационная работа Сысоевой А.П. соответствует требованиям пп.9-14 Постановление Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. № 842 в редакции от 28.08.2017 г. №1024, 01.10.2018 №1168, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 1.5.22 – Клеточная биология, а сам автор А.П. Сысоева заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – Клеточная биология.

Отзыв на диссертацию Сысоевой Анастасии Павловны заслушан, обсужден и одобрен на заседании кафедры гистологии и эмбриологии ФГБОУ

ВО «Самарского государственного медицинского университета Минздрава  
России (протокол № 4 от 17 ноября 2023 года)

**Профессор кафедры  
Гистологии и эмбриологии  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
доктор медицинских наук., доцент**

**Шурыгина О.В.**

Подпись д.м.н. Шурыгиной О.В. заверяю  
Ученый секретарь ФГБОУ ВО СамГМУ  
Минздрава России  
д.м.н., профессор



**Борисова О.В.**

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России  
443099, Российская Федерация, г. Самара, ул. Чапаевская, 89  
Телефон: +7 (846) 374-10-01. Электронная почта: info@samsmu.ru