

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 006.013.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ЖИВОТНОВОДСТВА – ВИЖ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Л.К.
ЭРНСТА» МИНОБРНАУКИ РОССИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ **КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ
НАУК**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 16 марта 2021 г. № 05

О присуждении **НАКИДКИНОЙ (БОЙЦЕВОЙ) Алёне (Елене)** Николаевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Роль кальциевой сигнализации и апоптоз в постэякуляционных процессах сперматозоидов *Bos Taurus*», в виде рукописи, по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), принята к защите 28.12.2020 года, протокол № 49 диссертационным советом Д 006.013.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства - ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста» Минобрнауки России (142132 Московская область, г. Подольск, п. Дубровицы, д.60, утв. приказом Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012 г.).

Соискатель Накидкина Алёна Николаевна 1989 года рождения, в 2011 году окончила ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» по специальности стоматология.

С 31 октября 2013 года по 28 февраля 2017 года являлась аспирантом очной формы обучения Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста».

С марта 2013 год по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории биологии развития во Всероссийском научно-исследовательском институте генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиале ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л. К. Эрнста.

Диссертация выполнена в лаборатории биологии развития во Всероссийском научно-исследовательском институте генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиале ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л. К. Эрнста.

Научный руководитель - доктор биологических наук (03.01.06), профессор, работает в должности заведующего лабораторией биологии развития во Всероссийском научно-исследовательском институте генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиале ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л. К. Эрнста.

Официальные оппоненты:

- Савченкова Ирина Петровна, доктор биологических наук (03.01.06), профессор ФГБНУ «Всероссийский научно - исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН», сектор стволовой клетки, заведующая;

- Гончаров Николай Васильевич - доктор биологических наук (03.01.04) ФГБНУ «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. Сеченова РАН», лаборатория сравнительной биохимии ферментов заведующий лабораторией

- дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» (109472 Москва, ул. акад. Скрябина, 23) в своем **положительном заключении**, подписанном Девришовым Давуадам

Абдулсемедовичем, заведующим кафедрой иммунологии и биотехнологии, доктором биологических наук, профессором, членом-корреспондентом РАН отметили, что диссертационная работа Накидкиной А.Н. по объему выполненных исследований, глубине анализа, новизне, научной и практической ценности выводов и предложений производству соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а автор диссертационной работы – Накидкина Алёна Николаевна - заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Соискатель имеет 10 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 10 научных работ, опубликованных в виде статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России – 6, 2 – в журналах, индексируемом в базе Scopus, 2- журналах, входящих в базу Web of Science. Общий объем опубликованных работ по теме диссертации – 100 страниц. Личный вклад соискателя составляет 71,2 %.

Наиболее значительные работы:

1. Денисенко, В.Ю. Освобождение Ca^{2+} из внутриклеточных депо сперматозоидов *Bos taurus* в зависимости от их функционального состояния / В.Ю. Денисенко, Е.Н. Бойцева, Т.И. Кузьмина // Цитология. – 2015. – Т. 57. - № 3. – С. 233–239. Scopus.
2. Денисенко, В.Ю. Трансдукция кальция в сперматозоидах быков при акросомной реакции после воздействия пролактина и ГТФ / В.Ю. Денисенко, Е.Н. Бойцева, Т.И. Кузьмина // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы. Гродно. – 2014. – Т. 26 (Зоотехния). - С. 53-60.
3. Денисенко, В.Ю. Воздействие глюкозы на капацитацию сперматозоидов быков, стимулированную совместным действием теофиллина и ГДФ / В.Ю. Денисенко, Е.Н. Бойцева, Т.И. Кузьмина // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. - № 2. - С. 199-201.
4. Бойцева, Е. Н. Оценка показателей постэякуляционного созревания сперматозоидов *Bos Taurus* хлортетрациклиновым тестом /

Е.Н. Бойцева, В.Ю. Денисенко, Т.И. Кузьмина // Онтогенез. – 2015. – Т. 46. - № 6. - С. 1–7. WoS.

5. Бойцева, Е.Н. Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема на апоптоз сперматозоидов *Bos Taurus* / Е.Н. Бойцева, Н.В. Бычкова, Т.И. Кузьмина // Цитология. – 2017. - Т.59. - № 5. - С. 375-380. Scopus.

6. Накидкина, А.Н. Апоптоз сперматозоидов и его роль в снижении качества семени / А.Н. Накидкина, Т.И. Кузьмина // Онтогенез. – 2019. – Т. 50. - № 4. - С. 219–227. WoS.

В опубликованных работах отражены основные результаты исследований соискателя, обосновывающие модель взаимодействия внутриклеточных депо кальция при капацитации и акросомной реакции сперматозоидов быков, а также характеризующие механизм воздействия наночастиц ВДК на мужские гаметы.

На автореферат диссертации поступило 7 положительных отзывов:

Гродненский ГАУ (канд. с.-х. наук Епишко О.А.); Казахский национальный аграрный университет (д-р ветеринар. наук Джуланов М.Н., канд. биол. наук Усенбеков Е.С.); Санкт-Петербургский государственный аграрный университет (канд. биол. наук, доцент Брагинец С.А., канд. биол. наук, доцент Позднякова Т.Э.); Рязанский ВНИИ коневодства (д-р с.-х. наук Лебедева Л.Ф.); Самарский ГАУ (д-р биол. наук, профессор Баймишев Х.Б.); Санкт-Петербургская военная академия (д-р биол. наук, профессор Кравцов В.Ю.), Витебская академия ветеринарной медицины (д-р ветеринар. наук, профессор Кузьмич Р.Г.);

В отзывах ВНИИ коневодства, Самарской ГАУ, Витебской академии ветеринарной медицины, имеются вопросы по использованию автором в таблицах автореферата среднего квадратичного отклонения (σ) вместо ошибки средней (m), более привычной для оценки достоверности разности средних величин, по учету температурного фактора при воздействии нВДК на мембрану митохондрий; по возможности использования критериев для установления эффективности течения капацитации и наступления акросомной реакции, где граница между двумя этими процессами, их

продолжительность, на сколько имеется возможность это просчитать при работе *in vitro*, по смыслу заложенному в трактовке «смещение равновесия» от апоптоза в сторону капцитации, по физиологическому значению этих двух понятий, взаимосвязи между этими двумя физиологическими процессами.

Во всех отзывах отмечается актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационной работы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они известны своими достижениями в области биотехнологии и имеют научные публикации по данной тематике, что позволяет им дать объективную оценку диссертационной работе.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны протоколы моделирования процессов капцитации и акросомной реакции путем индукции мобилизации кальция из внутриклеточных депо под воздействием теофиллина, пролактина, ГДФ и ГТФ, основанные на выявленных особенностях перемещения кальция между IP_3 -чувствительными и IP_3 -нечувствительными депо;

предложено: специалистам в области репродуктивных клеточных технологий с целью повышения качества деконсервированных сперматозоидов введение в состав криопротекторных сред наночастиц высокодисперсного кремнезема (нВДК) в концентрации 0.001 % с перспективой их модернизации антиоксидантами;

доказаны: участие перемещения кальция между внутриклеточными депо в процессах капцитации и акросомной реакции сперматозоидов быков; вовлечение актиновых филаментов, микротрубочек, а также протеинкиназ А и С в образование связи внутриклеточных депо; способность нВДК стимулировать капцитацию сперматозоидов быков, а также снижать

уровень апоптоза и обратимо снижать митохондриальный мембранный потенциал в мужских гаметах;

введены новые понятия и термины – не вводились.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что данные, полученные при изучении роли кальциевой сигнализации и различных внутриклеточных структур в индукции капацитации и акросомной реакции, расширяют знания о механизмах функционирования нативных и криоконсервированных мужских гамет и биохимии оплодотворения, а также углубляют сведения о воздействии наночастиц высокодисперсного кремнезема на сперматозоиды.

доказано, что в сперматозоидах быков, как и соматических клетках, возможно образование связи внутриклеточных депо кальция, а также перемещение кальция между депо в ключевые постэякуляционные процессы в мужских гаметах.

применительно к проблематике диссертации результативно использованы современные методы и приемы исследований, такие как метод флуоресцентного анализа (спектрофлуориметрия и проточная спектрофлуориметрия), ингибиторный анализ, биотехнологические (проведение капацитации и акросомной реакции *in vitro*). Полученные результаты подтверждены методом статистического анализа с определением степени достоверности.

изложены составы сред, необходимые реагенты и их концентрация, позволяющие индуцировать мобилизацию кальция из определенного типа внутриклеточных депо и перемещение кальция между депо;

раскрыт характер действия наночастиц высокодисперсного кремнезема (нВДК) на мужские гаметы;

изучена эффективность применения различных концентраций нВДК при инкубировании сперматозоидов быков, а также особенности механизма

действия этого соединения, влекущие за собой возможности модификации протоколов применения нВДК;

проведены исследования, демонстрирующие связь механизмов апоптоза и капацитации сперматозоидов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны теоретические основы модернизации сред для инкубации и криоконсервации/оттаивания сперматозоидов быков;

определены перспективы и направления дальнейших исследований постэякуляционных процессов в сперматозоидах млекопитающих: показана целесообразность изучения состояния мембран спермиев на разных этапах капацитации, что позволяет определить оптимальный временной интервал для криоконсервации клеток с учетом текучести, проницаемости мембран ферментных систем.

созданы протоколы модернизации криопротекторных сред с использованием наночастиц высокодисперсного кремнезема и моделирования процессов капацитации и акросомной реакции.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

экспериментальные исследования проводились с использованием классических и современных методов и приемов цитологии, молекулярной биологии и биохимии на сертифицированном оборудовании; показана повторяемость результатов; полученные данные обработаны статистически с определением степени достоверности;

теория, изложенная в диссертации, согласуется с данными предыдущих исследований лаборатории биологии развития, а также материалами научных публикаций отечественных и зарубежных ученых, в том числе с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ;

идея базируется на обобщении современных тенденций и данных передовых научных исследований в биотехнологических, в т.ч. бионанотехнологических, биохимических и ветеринарных областях;

использованы полученные экспериментальным путем, статистически обработанные, проанализированные и интерпретированные в том числе с точки зрения сопоставления с накопленными научными знаниями в области различных отраслей биотехнологии, криобиологии и ветеринарной медицины оригинальные данные;

установлено качественное и количественное совпадение результатов исследований автора с данными, опубликованными в независимых рецензируемых источниках по данной тематике;

использованы современные методы и приборы для получения и обработки экспериментальных данных с использованием актуального программного обеспечения.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы, а именно: анализе современного состояния предмета исследования, теоретическом обосновании гипотезы и планировании схемы экспериментов; освоении методологии исследования, проведении научных экспериментов, статистической обработке полученных данных; подготовке публикаций в рецензируемых периодических научных изданиях, а также конкурсной документации по материалам выполненной работы, апробации результатов исследования на научных конференциях; написании диссертационной работы и автореферата.

На заседании 16 марта 2021 года, которое проводилось в удаленном интерактивном режиме, диссертационный совет принял решение присудить Накидкиной Алёне Николаевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии). При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них докторов наук по

научной специальности 03.01.06 – 8 человек, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту НЕТ человек, проголосовали: за – 20, против – нет, воздержались – нет.

Председатель совета

Д 006.013.01

Ученый секретарь совета

Д 006.013.01

18 марта 2021 г.



Некрасов Роман Владимирович

Двалишвили Владимир Георгиевич