

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.038.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА
БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 24.12.2025 г., № 6

О присуждении Мироновой Анне Геннадьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние холестерина на криотолерантность сперматозоидов человека» по специальности 1.5.2. Биофизика принята к защите 22 октября 2025 года (протокол заседания № 2) диссертационным советом 24.1.038.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики имени Н.М.Эмануэля Российской академии наук, по адресу: 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4; приказ Министерства образования и науки № 105/нк от 11 апреля 2012 года.

Соискатель – Миронова Анна Геннадьена, 1 февраля 1990 года рождения, в 2013 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», физический факультет, кафедру биофизики. С 16 октября 2017 года по 15 октября 2021 года проходила обучение в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук по специальности 1.5.2. Биофизика (03.01.02 – биофизика).

В период подготовки диссертации с 03.02.2014 по 11.02.2025 соискатель Миронова Анна Геннадьевна работала эмбриологом в ООО «ЭКО ЦЕНТР» (03.02.2014–01.06.2017 – эмбриолог; 01.06.2017–01.02.2018 – старший эмбриолог; 01.02.2018–11.02.2025 – ведущий эмбриолог), 10.03.2025 – по

настоящее время соискатель Миронова Анна Геннадьевна работает эмбриологом в ООО «МЕДИЦИНА БУДУЩЕГО».

Диссертация выполнена в лаборатории фото- и хемилюминисцентных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН).

Научный руководитель – доктор физико-математических наук, профессор Тихонов Александр Николаевич, профессор кафедры биофизики физического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»; главный научный сотрудник лаборатории фото- и хемилюминисцентных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук (по совместительству).

Официальные оппоненты:

Шумаев Константин Борисович, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии азотфиксации и метаболизма азота Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»;

Горин Дмитрий Александрович, доктор химических наук, профессор, профессор лаборатории биофотоники Центра фотоники и фотонных технологий Сколковского института науки и технологий;

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в своем **положительном заключении**, составленном ведущим научным сотрудником отделения вспомогательных

технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова института репродуктивной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктором биологических наук Макаровой Натальей Павловной и утвержденном директором Центра, доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН Сухих Геннадием Тихоновичем, отмечает, что диссертационная работа посвящена чрезвычайно важной проблеме криобиологии и репродуктивной медицины – повышению эффективности криоконсервации сперматозоидов человека. Актуальность исследования обусловлена низкой выживаемостью сперматозоидов человека после криоконсервации, необходимостью разработки новых мембраностабилизирующих технологий и потребностью клинической практики в оптимизации протоколов криоконсервации мужских половых клеток.

Научная новизна полученных результатов заключается в том, что автором впервые продемонстрировано, что инкубация сперматозоидов человека с комплексами метил- β -циклоцистринов с холестерином приводит к дозозависимому увеличению содержания холестерина в мембранах, сопровождающему последующим повышением криотолерантности клеток. Определена оптимальная концентрация комплексов, обеспечивающая повышение доли прогрессивно подвижных и жизнеспособных сперматозоидов после размораживания.

Полученные результаты создают основу для разработки новых криопротекторных сред, содержащих компоненты, направленные на стабилизацию плазматической мембранны сперматозоидов, и оптимизации протоколов криоконсервации сперматозоидов в клинической практике вспомогательных репродуктивных технологий. Особое внимание привлекает продемонстрированная возможность управлять содержанием холестерина в мембранах сперматозоидов, что открывает перспективы не только для повышения их устойчивости к низким температурам, но и для

экспериментального изучения роли липидного состава мембран в регуляции функциональной активности клеток.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основные результаты, изложенные в диссертации.

Содержание диссертации Мироновой Анны Геннадьевны «Влияние холестерина на криотолерантность сперматозоидов человека» соответствует паспорту специальности 1.5.2. Биофизика.

В заключении отмечено, что диссертационная работа Мироновой Анны Геннадьевны «Влияние холестерина на криотолерантность сперматозоидов» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи, имеющей важное научное и практическое значение для биологии и медицины. Диссертация отвечает требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Миронова Анна Геннадьевна заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

По теме диссертации опубликованы 9 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, 2 статьи в сборниках трудов научных конференций, 3 работы в сборниках тезисов научных конференций. Основные результаты диссертационного исследования достаточно полно изложены в опубликованных работах.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Миронова, А.Г.** Использование комплексов включения холестерина на основе произвольно метилированных бета-циклодекстринов для повышения криотолерантности сперматозоидов человека / **А.Г. Миронова, С.И. Афанасьева,**

С.А. Яковенко, А.Н. Тихонов, Е.Ю. Симоненко // **Биофизика**. – 2024. – Т. 69, № 6. – С. 1390–1401;

2. **Миронова, А.Г.** Влияние холестерина на мембранны сперматозоидов: исследование с помощью спиновых зондов / **А.Г. Миронова**, Б.В. Трубицин, Е.Ю. Симоненко, А.В. Сыбачин, С.А. Яковенко, А.Н. Тихонов // – **Биофизика** – 2025 – Т. 70, № 4. – С. 704–714;

3. **Миронова, А.Г.** Сравнение методов определения концентрации холестерина в мембране сперматозоидов человека для экспресс-анализа в условиях клинической лаборатории / **А.Г. Миронова**, С.И. Афанасьева, А.В. Сыбачин, В.В. Спиридовон, М.А. Большаков, Е.Ю. Симоненко // **Биоорганическая химия**. – 2025. – Т. 51, № 1. – С. 43–50;

На автореферат поступило 6 положительных отзыва:

1) в отзыве д.б.н., академика РАН **Колесникова Станислава Сергеевича**, заведующего лабораторией молекулярной физиологии клетки Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» в качестве замечаний к работе отмечается, что: **1.** Поскольку мембранотропные соединения могут влиять на активность рецепторов и ферментов, детерминирующих хемотаксис и проникновение сперматозоида в яйцеклетку, морфологические критерии и подвижность являются необходимыми, но недостаточными для оценки функциональности сперматозоидов; **2.** Циклодекстрины могут экстрагировать из клеточной мембраны не только холестерин, но и ряд фосфолипидов, а также взаимодействовать с мембранными белками, модифицируя их активность. Механизм действия комплекса RAMEB-CHOL на сперматозоиды вряд ли исчерпывается повышением вязкости и жесткости плазмалеммы; **2)** отзыв к.ф.-м.н. **Власовой Ирины Ивановны**, ведущего научного сотрудника Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения

высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации без замечаний; **3)** в отзыве д.б.н. Реутова Валентина Палладиевича, ведущего научного сотрудника лаборатории функциональной нейроцитологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности нейрофизиологии Российской академии наук замечания отсутствуют; **4)** отзыв д.б.н. Тимошина Александра Анатольевича, ведущего научного сотрудника лаборатории физико-химических методов исследования Научно-исследовательского института экспериментальной кардиологии им. академика В.Н. Смирнова, структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации без замечаний; **5)** отзыв д.б.н. Горудко Ирины Владимировны, профессора кафедры биофизики физического факультета Белорусского государственного университета без замечаний; **6)** в отзыве д.б.н. Птушенко Василия Витальевича, ведущего научного сотрудника отдела фотобиофизики Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» имеются следующие вопросы: **1.** почему нельзя использовать сперматозоиды животных в качестве модели и переносить полученные на них результаты на сперматозоиды человека?; **2.** интересно узнать как меняется (увеличивается ли?) вязкость при увеличении содержания холестерина в мембранах; **3.** на рис. 5 представлены данные о параметрах спектра спинового зонда в липосомах в зависимости от содержания в них холестерина в относительных единицах. Возможно ли привести его в абсолютных единицах, и использовать этот график как калибровочный для оценки содержания холестерина в мембранах сперматозоидов?

В отзывах отмечено, что тема диссертации является актуальной и обладает теоретической обоснованностью и практической значимостью. Практическая значимость исследований состоит в продемонстрированной возможности использования комплексов метилированных β -циклогексенинов с холестерином для изменения содержания холестерина в сперматозоидах и повышения их криотолерантности. Полученные результаты открывают перспективы для разработки новых криопротекторных сред с направленным мембранныстабилизирующим действием, что потенциально может быть использовано для повышения эффективности репродуктивных технологий. Результаты и выводы работы соответствуют поставленным задачам, их достоверность не вызывает сомнений.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией по проблеме настоящей диссертационной работы и достижениями в области биофизики мембран, биохимии свободнорадикальных процессов, ЭПР-спектроскопии, супрамолекулярной химии, наноструктур и биомембранных систем, а также наличием публикаций в соответствующей сфере исследования, что позволяет им оценить научную и практическую ценность диссертации. Оппонент д.б.н. Шумаев К.Б. является признанным специалистом в области биохимии свободнорадикальных процессов, биофизики мембран, электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и его применения для изучения свободнорадикальных процессов в биологических системах. Оппонент д.х.н., профессор Горин Д.А. является специалистом по супрамолекулярным и коллоидным системам, наноструктурам и доставке макромолекул в мембранны. Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации – является ведущим научным центром в области репродуктивной медицины и вспомогательных репродуктивных технологий, включая исследования в области криобиологии и криотолерантности сперматозоидов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана методика оптимизации технологии криоконсервации сперматозоидов человека, обеспечивающая сохранение более высокого (статистически значимого) индекса подвижности и индекса жизнеспособности сперматозоидов после размораживания по сравнению с контрольными образцами, основанная на использовании мембранныстабилизирующих компонентов;

предложен метод целенаправленного изменения липидного состава мембран сперматозоидов человека с использованием метилированных β -циклогексстринов и их комплексов с холестерином;

доказано, что инкубация сперматозоидов человека с комплексами метил- β -циклогексстринов с холестерином вызывает дозозависимое повышение содержания холестерина в мембранах сперматозоидов с последующим выходом на плато. Оптимизация мембранныного пула холестерина сперматозоидов человека приводит к повышению подвижности и жизнеспособности сперматозоидов после размораживания, что свидетельствует о снижении выраженности крио-индуцированных повреждений.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны положения, вносящие вклад в расширение представлений о роли липидного состава мембраны сперматозоидов человека в устойчивости клеток к низкотемпературным воздействиям;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих методов количественного определения холестерина, классический подход к изучению физических свойств липидных мембран – метод спиновых зондов, рентгеноструктурный анализ, а так же рутинные методы вспомогательных репродуктивных технологий, такие как обработка эякулята в градиенте плотности, криоконсервация эякулята, оценка концентрации, подвижности, жизнеспособности и фрагментации ДНК сперматозоидов;

изложены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что основной механизм действия комплексов метилированных β -циклодекстринов с холестерином заключается в модификации уровня мембранного холестерина сперматозоидов, что приводит к стабилизации бислоя и повышению устойчивости клеток к криоиндуцированным повреждениям;

раскрыты общие закономерности влияния холестерина на «микровязкость» липидного бислоя мембраны сперматозоидов человека. Сопоставление спектров ЭПР молекул 5-ДС в контрольных образцах и в клетках, обработанных метилированными β -циклодекстринами, позволило сделать вывод, что экстракция холестерина вызывает изменения спектра ЭПР зонда 5-ДС, аналогичные тем, которые можно наблюдать в липосомах с разным содержанием холестерина;

изучена цитотоксичность метилированных β -циклодекстринов и их комплексов с холестерином в отношении сперматозоидов человека.

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

разработана методика повышения криотолерантности сперматозоидов человека, основанная на изменении содержания холестерина в мембранах сперматозоидов с использованием комплексов метил- β -циклодекстринов с холестерином, которая может быть использована для создания новых поколений криопротекторных сред с направленным мембранныстабилизирующим действием, что имеет практическое значение для повышения эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий;

представлена возможность управляемого изменения содержания холестерина в мембранах сперматозоидов с использованием метил- β -циклодекстринов, что открывает перспективы для экспериментального изменения липидного состава мембраны с целью последующего изучения роли холестерина в функциональной активности сперматозоидов человека.

Оценка достоверности результатов исследования выявила следующее:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании с применением современных экспериментальных методов исследований в области биофизики клетки, а также стандартных методик обработки результатов; показана воспроизводимость данных; сформулированные в диссертации научные положения и выводы подтверждаются экспериментальными данными;

теория основана на известных литературных данных в области исследования роли холестерина в упорядочении ацильных цепей фосфолипидов, текучести и профиле гидрофобности липидной мембраны и его влияния на фазовые переходы в липидных бислоях;

идея базируется на анализе массива экспериментальных и литературных данных в области исследования криотолерантности сперматозоидов разных видов млекопитающих, а также данных о механизмах гомеовискозной адаптации клеток – явления, отмеченного у бактерий и холоднокровных животных, выражающее в способности регулировать состав мембранных липидов в ответ на изменение температуры окружающей среды с целью поддержания текучести мембраны в физиологических пределах;

использованы авторские данные, которые сравниваются с результатами, полученными и опубликованными другими исследователями, по рассматриваемой тематике;

установлено, что полученные автором результаты согласуются с данными, представленными в независимых источниках по исследованию криотолерантности сперматозоидов других видов млекопитающих;

использованы современные методы исследования и статистической обработки данных экспериментальных измерений. Научные положения, результаты и выводы, полученные в диссертации, достоверны, внутренне согласованы и полностью подтверждаются экспериментальными данными, а также получили признание в виде научных публикаций и апробации на научных конференциях.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы, том числе в анализе литературных данных, планировании,

подготовке и проведении научных экспериментов, обработке полученных результатов и их интерпретации, а также подготовке публикаций по результатам работы.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

Диссертация Мироновой Анны Геннадьевны «Влияние холестерина на криотолерантность сперматозоидов человека» представляет собой завершенную научно-квалификационную работу и отвечает требованиям в пунктах 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки России (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, в ред. Постановления Правительства РФ от 25.01.2024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

На заседании 24 декабря 2025 года диссертационный совет принял решение присудить Мироновой Анне Геннадьевне ученую степень кандидат биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.2. Биофизика участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета проголосовали: за присуждение ученой степени – 19, против присуждения учено степени – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета, д.х.н



Трофимов А.В.

Ученый секретарь диссертационного совета, к.х.н.

Мазалецкая Л.И.

24 декабря 2025 года