

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук, доцента

Сафоновой Ольги Анатольевны

на диссертационную работу Исакиной Марины Владимировны

«Роль липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации
поврежденных соматических нервов»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.02 – Биофизика

Актуальность темы

Диссертационная работа Исакиной Марины Владимировны посвящена актуальной проблеме выяснения механизмов, лежащих в основе проведения возбуждения по соматическим нервам и регенерации поврежденных нервных проводников. Распространение возбуждения по нервным волокнам представляет собой универсальный и фундаментальный процесс, лежащий в основе жизнедеятельности многоклеточных организмов. Особая роль липидов в функционировании возбудимых образований обусловлена тем, что они являются обязательными компонентами биологических мембран, а разнообразие в химическом строении обеспечивает им широкий спектр функций в клетке. Собственно липиды и различные метаболиты липидной природы принимают активное участие во всех важнейших физиологических процессах, происходящих в организме, в том числе в регуляции внутриклеточных биохимических реакций и межклеточных взаимодействий. Любые сдвиги в морфофункциональном состоянии липидов приводят к изменению проницаемости и текучести мембранных клеточных структур, развитию патологических процессов и нарушению регенерации. Об этом свидетельствуют литературные данные, указывающие на изменение ионной проницаемости, уровня мембраносвязанного Ca^{2+} , активности ферментов, вязкости цитоплазмы при повреждении нервного волокна. Эти изменения во многом определяются нарушением состава и состояния липидов нервной ткани. Известно, что после перерезки нерва центральная регуляция сохраняется только в проксимальном конце нервного волокна. Исходя из этого, изменения, возникающие в результате травмы, должны иметь характерные различия в

проксимальном и дистальном участках нерва. Однако, до сих пор, эти различия не были исследованы. Кроме этого, до настоящего времени остается актуальным поиск новых, более эффективных методов, способствующих регенерации нервной ткани и восстановлению функций поврежденных соматических нервов. Перспективным направлением для стимуляции посттравматической регенерации нервных проводников является использование биологически активных веществ, в частности, гиалуроновой кислоты. Тем не менее, в литературе практически отсутствуют данные о ее роли в регуляции регенерационных процессов в поврежденных соматических нервах. В связи с вышесказанным, актуальность диссертационной работы М.В. Исакиной не вызывает сомнений.

Научная новизна исследований

Научная новизна диссертационной работы М.В. Исакиной заключается в сравнительном анализе изменения состава и состояния липидов соматических нервов при их повреждении и нормальном функционировании, а также обоснования возможности использования гиалуроната калия как одного из факторов, вызывающих стабилизацию липидного состава, снижение содержания продуктов пероксидного окисления, лизофосфолипидов и свободных жирных кислот. С использованием современных методов спектроскопии комбинационного рассеяния и дифференциальной сканирующей калориметрии впервые показано, что на фоне действия гиалуроната калия происходит восстановление физико-химического состояния бислоя и микровязкости липидного компонента соматических нервов. Установлено, что одним из механизмов проявления мембранопротекторных свойств гиалуроната калия является регуляция активности Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 .

Научно-практическая значимость работы

Полученные автором результаты имеют важное практическое приложение. В частности, они позволяют расширить и углубить представления об участии липидов в процессах проведения возбуждения по соматическим нервам и развития патологии нервного волокна после его повреждения, а также позволяют выявить возможный механизм действия гиалуроната калия в процессе восстановления функционирования нервных проводников. Найденные закономерности влияния гиалуроната калия на изменение содержания и жирнокислотного состава фосфолипидов мембран нервных волокон, а также

данные об изменении состояния липидного бислоя и активности Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 могут использоваться для разработки новых методов стимуляции восстановления функций соматических нервов в клинической медицине.

Структура диссертации и автореферата

Диссертационная работа Исакиной Марины Владимировны «Роль липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов» изложена на 168 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части и обсуждения результатов, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка использованных источников (225 источников, из которых 112 принадлежит иностранным специалистам). Иллюстративный материал включает 55 рисунков и 2 таблицы, а также 37 таблиц в Приложении. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертационной работы, он написан доступным языком, хорошо иллюстрирован.

Во **введении** обоснована актуальность исследования, формулируется цель и задачи работы, научная новизна и научно-практическая значимость полученных результатов.

Необходимо отметить, что в диссертационной работе представлен достаточно подробный **обзор литературы**, в котором обобщены данные о составе липидов нервной ткани и биологической роли ферментов группы фосфолипазы A_2 , участвующих в развитии дегенерационных и регенерационных процессов. Автором представлена информация о современных методах стимуляции восстановления нервной ткани. Особое внимание уделяется работам, касающимся участия гиалуроновой кислоты в процессах регенерации. В обзоре представлены достижения как отечественных, так и зарубежных ученых в исследуемой области. Следует также отметить, что автором зачастую использованы источники последних лет, поэтому обзор представляется вполне современным.

Хорошее впечатление оставляет глава с подробным описанием **объектов и методов исследования**, что позволит легко воспроизвести проводимые автором эксперименты. В работе были применены адекватные поставленным задачам современные биофизические и биохимические методы исследования:

экстракция липидов, микротонкослойная хроматография липидов, их идентификация и количественное определение, газовая хроматография жирных кислот, спектрофотометрический метод определения содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, метод регистрации потенциала действия, метод спектроскопии комбинационного рассеяния и дифференциальной сканирующей калориметрии. Результаты статистически обработаны. Таким образом, использованные в диссертационной работе методы позволили провести исследование на высоком научно-методическом уровне.

Результаты собственных исследований представлены в главах 3-5 и наглядно подтверждены иллюстративным материалом.

В главе 3 представлены результаты экспериментов, направленных на изучение липидного состава при возбуждении и регенерации поврежденных соматических нервов крысы на фоне действия гиалуроната калия. Показано, что при переходе нерва из состояния покоя в состояние функциональной активности происходит интенсификация метаболизма фосфоинозитидов, процессов пероксидного окисления липидов и активация фосфолипазы A_2 . С помощью дифференциальной сканирующей калориметрии установлено, что изменение метаболизма липидов коррелирует с изменением физико-химического состояния липидного бислоя. Однако наблюдающиеся изменения липидного состава носят кратковременный характер и не приводят к развитию патологических процессов. Травма нерва, вызванная его перерезкой, приводит к накоплению лизофосфолипидов, свободных жирных кислот и продуктов пероксидного окисления липидов, а также изменению содержания жирнокислотного состава липидов как в проксимальном, так и в дистальном отрезке нервного проводника. Автор сравнивает глубину изменений в исследуемых участках нерва и отмечает, что в проксимальном конце нерва они менее выражены, а гиалуронат калия свое стабилизирующее действие на восстановление липидного и жирнокислотного состава оказывает в большей степени именно в этом отрезке нерва.

Результаты исследований, представленные в главе 4, показывают, что при повреждении соматических нервов крысы происходит изменение физико-химического состояния липидного бислоя. Установлено, что введение гиалуроната калия способствует восстановлению микровязкости липидного компонента соматических нервов.

При анализе результатов, представленных в главе 5, диссертантом обнаружено, что использование гиалуроната калия в концентрации 30 мг/кг приводит к снижению активности Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 и не вызывает достоверных изменений активности Ca^{2+} -независимой фосфолипазы A_2 в седалищном нерве крысы при повреждении. На основании этого автор делает вывод о том, что ускорение регенерационных процессов в поврежденном нервном проводнике при действии гиалуроната калия опосредовано функционированием Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 .

К достоинствам работы может быть отнесено то, что автор в **заключении** предлагает наглядную схему участия липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов.

Выводы диссертации соответствуют целям и задачам исследования, обоснованы фактическим материалом работы.

Таким образом, полученные автором данные вносят вклад в развитие представлений о роли липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов.

В то же время работа не лишена и некоторых недостатков:

1. Автором диссертации не было акцентировано внимание на причинах выбора использованных в работе концентраций гиалуроната калия.
2. Не совсем ясно, почему данные по содержанию фосфолипидов выражены в *мкг* неорганического фосфора индивидуальных фосфолипидных фракций к *мг* суммарного неорганического фосфора всех фосфолипидных фракций. Возможно, было бы целесообразнее сделать перерасчет на общее количество липидов, что позволило бы сравнить результаты с фракциями других исследуемых липидов.
3. Поскольку в заключительной схеме упоминаются фосфолипазы С и D, которые, согласно литературным данным, могут участвовать в процессах повреждения нервов, представляется интересным привести в заключении хотя бы кратко механизмы изменения функционирования данных ферментов в описываемых условиях и их связь с участием липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов.
4. Восприятие материала диссертационной работы затрудняют полные ссылки на источники литературы, приведенные в тексте.

Заключение

Диссертация в целом представляет собой научный труд, в котором получены практические результаты, расширяющие представления о роли липидов в процессах проведения возбуждения и регенерации поврежденных соматических нервов. Результаты исследований автора отражены в 18 работах, из них 1 статья опубликована в издании, состоящем в списке журналов, рекомендованных ВАК РФ, и 2 статьи – в зарубежных изданиях, индексируемых в базе данных Scopus. Опубликованные по теме диссертации публикации в полной мере отражают изложенный в работе материал. Диссертационную работу отличает хорошая степень обоснованности научных положений, выводов и заключений. Высокое качество статистической обработки и анализа материала позволяют считать исследование достоверным. Выводы конкретны, научно обоснованы, вытекают из содержания работы, полностью соответствуют полученным данным, поставленным задачам и доказывают положения, выносимые на защиту. Высказанные замечания не ставят под сомнение основные выводы диссертации. Представленная работа по своей актуальности, научной новизне, практической значимости и методическому уровню исследований соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, а её автор Исакина Марина Владимировна достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика.

Доцент кафедры медицинской биохимии и
микробиологии
биолого-почвенного факультета
ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
университет», к.б.н., доцент

Сафонова О.А.

адрес: 394006, г. Воронеж, Университетская пл., 1
биолого-почвенный факультет ВГУ
тел.: 8(920) 453-17-72, доп. 1111
e-mail: solya333@mail.ru

