

## **Отзыв**

**официального оппонента о диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук Пиняева Сергея Ивановича на тему:**

**«Исследование состава и состояния липидов, белков и активности антиоксидантных ферментов при возбуждении и действии ресвератрола на регенерацию поврежденных соматических нервов » по специальности**

**03.01.02-Биофизика**

Актуальность работы. Повреждения периферических нервов остаются одной из актуальных проблем современной науки и составляют 3-10% от всех травм опорно-двигательного аппарата. Несмотря на больший (по сравнению с ЦНС) потенциал к регенерации, восстановление травмированных в результате сдавливания или разрыва нервов не всегда возможно. После повреждения нервов, как правило, образуется соединительно-тканый рубец, препятствующий росту регенерирующих аксонов, часто формируется неврома. Кроме того, в тканях-мишениях и органах-мишениях из-за недостаточности трофики после травмы нерва наблюдаются дистрофические изменения, которые порой имеют необратимый характер. Чтобы избежать этого делаются попытки ускорить рост регенерирующих нервных волокон, например, с помощью применения различных трофических и ростовых факторов и синтетических лекарственных препаратов. Исследования, посвященные поиску новых эндогенных соединений, позволяющих интенсифицировать регенеративные процессы после травмы нерва, и в частности диссертационная работа С.И. Пиняева, безусловно посвящены актуальной проблематике.

Представленная к защите работа имеет стандартную структуру и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, а также заключения, выводов и списка использованных источников, содержащего 216 источников. Иллюстративный материал включает 50 рисунков и 2 таблицы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Во введении диссертационной работы приводится краткая характеристика тематики исследования, научная новизна и значимость работы, сформулированы цели и задачи работы.

**Обзор литературы** содержит в себе достаточно полный анализ современной научной литературы по изучаемой проблеме. Диссертантом было проработано 216 источников литературы, из которых 185 – работы зарубежных авторов. Рассмотрены особенности строения и химического состава периферических нервов, подробно охарактеризован липидный и белковый состав миелина. В разделе 1.2 описаны эффекты ресвератрола на окислительные процессы в клетке и его возможные нейропротекторные эффекты. Особое внимание уделено молекулярным механизмам взаимодействии ресвератрола с клеточной мембраной.

**Материалы и методы исследования.** Методы и объект исследования описаны достаточно подробно. В работе использован комплекс молекулярно-биологических и биохимических методов, позволивший выполнить все поставленные задачи. Выполнена комплексная оценка активности антиоксидантных ферментов, выделенных из поврежденных нервов крысы. Следует отметить использование таких современных аналитических методов, как дифференциальная сканирующая калориметрия и спектроскопия комбинационного рассеяния, использованных для детального исследования химического состава мембран нервных окончаний. Дизайн экспериментальных исследований составлен обосновано и логично, работа выполнена на высоком методическом уровне. Размер экспериментальных групп достаточен для подтверждения достоверности результатов.

**Результаты и их обсуждение** представлены в главе 3. В первом блоке результатов автор приводит полученные данные по составу фосфолипидов и жирных кислот в мембране периферического нерва в норме и при повреждении. Продемонстрировано, что электрическая стимулация вызывает физиологические изменения наиболее лабильных фракций фосфолипидов.

Описана динамика изменения фракций фосфолипидов в дистальном и проксимальных участках поврежденного нерва. Новым результатом является выявленное защитное действие ресвератрола на состав фосфолипидов и жирных кислот мембранны седалищного нерва фоне травмы. Автором исследованы изменения температуры фазового перехода липидов при травме нерва, что характеризует физико-химическое состояние липидного бислоя. перехода липидов. Полученные результаты достаточно подробно обсуждаются в контексте имеющихся литературных данных.

Второй блок экспериментальных результатов посвящен изучению белкового состава нервного окончания после травмы. Продемонстрировано, что применение ресвератрола поддерживает состав миелин-специфичных белков после травмы. Описание белков миелиновой группы вероятно логичнее было бы привести не в главе «Результаты», а в обзоре литературы.

Третий экспериментальный блок посвящен исследованию эффектов ресвератрола на активность антиоксидантных ферментов и процессы перекисного окисления липидов при повреждении нерва. Исследована активность основных антиоксидантных ферментов и проанализировано изменение количества продуктов ПОЛ на разных сроках от перерезки нерва. Интерес представляют данные автора о выраженном антиоксидантном действии ресвератрола. Обращает на себя внимание, что все данные представлены в процентных значениях, а не в абсолютных величинах. С чем связана такая форма представления экспериментальных данных?

Последний раздел главы «Результаты» посвящен изучению изменения состояния липидов соматических нервов крысы при повреждении и введении ресвератрола методом спектроскопии комбинационного рассеяния. Охарактеризовано белок/липидное соотношение на разных сроках после травмы и дополнительно подтверждено защитное действие ресвератрола. Однако не совсем понятна ценность данного раздела, поскольку описание липидного и белкового состава нерва, выполненное другими методами, приведено ранее, а конкретных выводов по разделу автор не приводит.

В заключении автор приводит разработанную им схему возможного влияния ресвератрола на процесс регенерации поврежденного периферического нерва. Также в заключении дополнительно суммируются и кратко обсуждаются все полученные данные. Выносимые на защиту положения и выводы базируются на анализе полученных автором экспериментальных данных, корректно сформулированы и обоснованы.

#### Замечания по результатам и их оценке

Принципиальных замечаний к изложенному в работе материалу нет. Диссертационная работа Пиняева С.И. выполнена на высоком методическом уровне, результаты исследования хорошо описаны и проиллюстрированы, выводы отражают экспериментальные результаты и логически обоснованы, однако имеется несколько вопросов и замечаний:

1. В обзоре литературы следовало бы уделить большее внимание исследованиям, опубликованным в течение последних пяти лет, что позволило бы сделать его более актуальным. Таких работ процитировано всего 12, отсутствуют источники 2019-2020 гг. Однако данное замечание не носит принципиального характера. Обзор литературы хорошо проработан, логично изложен и свидетельствует о том, что диссертант имеет высокий уровень теоретической подготовки.
2. В разделе 2.16 главы «Материалы и методы» указано, что достоверность отличий между экспериментальными группами оценивали с использованием  $t$ -критерия Стьюдента, однако не указано, проводилась ли оценка распределения на нормальность, что является необходимым требованием для использования данного статистического критерия.
3. Не приводится обоснование выбора используемых в работе концентраций ресвератрола.
4. В первом разделе главы результаты приводятся интересные данные о влиянии проведения возбуждения на состав и состояние липидов седалищного нерва в нормальных условиях. Было бы интересно

дополнить работу исследованием влияния электрической стимуляции также и на изменение жирнокислотного состава фосфолипидов.

5. В тексте работы достаточно много грамматических и стилистических ошибок и опечаток.

Вышеуказанные замечания не снижают ценность диссертационной работы Пиняева С.И.

**Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, теоретическая и практическая ценность исследования.**  
Представленные автором диссертации экспериментальные данные являются убедительными, носят фундаментальный характер, расширяют представления о регенерационных процессах при повреждении периферических нервов и влиянии на эти процессы биологически активного вещества ресвератрол. Использование эндогенных биологически активных соединений для усиления регенеративных и адаптационных процессов в организме является чрезвычайно актуальным направлением нейробиологии и биомедицины.

На основе полученных автором результатов, свидетельствующих о выраженном положительном влиянии ресвератрола на процессы регенерации в нерве, в перспективе представляется возможным разработать новые терапевтические подходы для лечения различных типов повреждения и дегенерации периферических нервов.

#### **Заключение по анализу диссертационной работы.**

По объему выполненной диссертационной работы, качеству изложенного материала, актуальности и новизне полученных результатов, их научной и практической значимости, достоверности полученных результатов, обоснованности выводов и положений, выносимых на защиту, диссертационная работа Сергея Ивановича Пиняева «Исследование состава и состояния липидов, белков и активности антиоксидантных ферментов при возбуждении и действии ресвератрола на регенерацию поврежденных

соматических нервов» является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 03.01.02 – Биофизика и полностью отвечает требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а ее автор, Пиняев Сергей Иванович, достоин присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика.

### **Официальный оппонент**

Доцент кафедры нейротехнологий Института биологии и биомедицины  
ФГАОУ ВО "Национальный исследовательский Нижегородский  
государственный университет им. Н.И. Лобачевского"  
Кандидат биологических наук, доцент  
Митрошина Елена Владимировна

  
27.11.2020

Контактные данные: тел. +7-950-604-51-37

e-mail: helenmitroshina@gmail.com

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования "Национальный исследовательский Нижегородский  
государственный университет им. Н.И. Лобачевского" (ННГУ)

Адрес: 603950, г.Нижний Новгород, пр.Гагарина, 23 Факс: (831) 462-30-85

Эл.почта: unn@unn.ru

