

УТВЕРЖДАЮ

Проректор-начальник

Управления научной политики МГУ

имени М.В.Ломоносова

А.А. Федяний



27.10.октябрь 2020 года

**ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ  
на диссертацию Пиняева Сергея Ивановича**

**«Исследование состава и состояния липидов, белков и активности антиоксидантных ферментов при возбуждении и действии ресвератрола на регенерацию поврежденных соматических нервов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика.**

Диссертационная работа Пиняева Сергея Ивановича посвящена изучению изменений в липидном и белковом составе соматического нерва при его повреждении, изменений, происходящих вследствие повреждения нерва и при его регенерации, а также влиянию возможного репарирующего агента (полифенола ресвератрола) на биохимические и биофизические процессы, происходящие при восстановлении нерва.

**Актуальность работы.** Восстановление нервов после их повреждения – это одна из важнейших проблем, стоящих перед фундаментальной биологией и медициной. К сожалению, нервная ткань является одной из самых неспособных к регенерации. В настоящее время травматические поражения спинного мозга является наиболее тяжелым видом травм, которые

представляют собой важнейшую медико-социальную проблему. Частота таких травм в России составляет 2,6-14,5 на 100 000 населения, в общей структуре травматизма они представляют от 0,7 до 4 %. В связи с этим тема диссертационной работы Пинаева Сергея Ивановича, в которой рассматриваются изменения, происходящие в соматическом нерве при его перерезке, регенерации и при влиянии на процесс регенерации биологически активного соединения полифенола ресвератрола, являются, безусловно, актуальными.

*Диссертационная работа* Пиняева С.И. написана в стандартном варианте и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы (1 глава), материалы и методы исследования (2 глава), результаты и их обсуждение (3 глава), а также заключения, выводов и списка использованных источников, содержащего 216 публикаций. Иллюстративный материал включает 50 рисунков и 2 таблицы.

*Обзор литературы* представленной диссертации содержит анализ современных литературных данных, достаточно полно освещаяший вопросы, касающиеся нормального и посттравматического функционирования периферической нервной системы. Подробно описаны современные представления о механизме проведения возбуждения по соматическим нервам, липидный и белковый состав этих структур в норме и после травмы, а также роль отдельных компонентов мембранны в процессе функционирования нервной ткани. Подробно описаны процессы перекисного окисления липидов мембранны в норме и при патологии, участие различных антиоксидантных систем в этих процессах. Поскольку травма нервных волокон приводит зачастую к необратимой потери функции, автор уделил особое внимание модуляции нейротрофических сигнальных путей полифенолами. В настоящее время применение полифенолов рассматривается как один из возможных способов ускорения процесса регенерации поврежденного периферического нерва. В обзоре литературы подробно описаны также свойства, механизм действия и влияние на

клеточную мембрану ресвератрола, полифенола, который диссертант использует в своем исследовании. Представленные данные хорошо объясняют широкий спектр действия ресвератрола в качестве антиоксиданта и нейропротектора. В целом обзор литературных данных содержит информацию, необходимую для понимания как цели и задач исследования, так и его дизайна, а также позволяет адекватно оценить полученные результаты и их интерпретацию автором.

*Материалы и методы исследования* представлены во второй главе диссертационной работы С.И. Пиняева. В ней описаны объект и дизайн исследования, а также многочисленные биофизические и биохимические методы, использованные диссидентом при выполнении работы. Среди них методы липидологии (тонкослойная хроматография липидов и газовая хроматография жирных кислот), методы оценки процессов перекисного окисления липидов путем анализа ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов и диеновых коньюгатов, методы белковой химии и энзимологии (анализ белкового состава мембран с использованием электрофореза в полиакриламидном геле, определение активности супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы). В исследовании применены также современные биофизические методы, такие как регистрация потенциала действия, дифференциальная сканирующая калориметрия, спектроскопия комбинационного рассеяния. Примененный широкий арсенал современных методов свидетельствует об очень хорошей подготовке Пиняева С.И как исследователя, а подробное и тщательное их описание с наличием многих контролей и статистической оценкой результатов позволяет считать исследование тщательно выполненным, а его полученные результаты достоверными. Исходя из сказанного, можно заключить, что экспериментальная часть работы выполнена на высоком научно-методическом уровне, а диссидент в результате получения экспериментальных данных стал хорошо подготовленным специалистом в

области биофизики, готовым к использованию современных методов в исследовательской работе.

Следует также отметить, что схема эксперимента и сами методы описаны достаточно подробно, поэтому они могут быть легко воспроизведены. Работа выполнена в соответствии с правилами, установленными по уходу и использованию животных с использованием принципов гуманности и в соответствии с требованиями Женевской Конвенции.

*Результаты и их обсуждение* описаны автором в третьей главе диссертационной работы. Исследование Пиняева С.И. установило фосфолипидный и жирнокислотный состав соматических нервов крысы и показало, какие изменения происходят при проведении нервных импульсов. Оказалось, что кратковременное возбуждение соматического нерва достоверно, но незначительно влияет лишь на содержание фосфатидилэтаноламина и фосфатидилинозитидов. Исследование зависимости липидного состава нерва после его повреждения во времени продемонстрировало динамические и существенные изменения в содержании основных классов липидов и жирных кислот и показало, что в дистальном отделе нерва эти изменения более выражены.

Исследование белкового состава миелина выявило миелин-специфические белки и установило, как происходит изменение их количественного и качественного состава при регенерации нерва после его перерезки, что позволяет привлечь внимание к роли нулевого белка миелина. Автор также продемонстрировал усиление интенсивности перекисного окисления липидов и изменение активности ферментов, устраниющих активные формы кислорода в процессе дегенерации нерва после его перерезки. И, крайне важно, была показана положительная роль ресвератрола в процессах регенерации соматического нерва.

*Замечания по результатам и их оценке* сводятся к следующему. Диссертация представляет собой классическое феноменологическое

исследование, цель которого установить, что происходит в биохимической и биофизической структуре поврежденного нерва, какие изменения происходят при его регенерации, и как на это влияет ресвератрол. Это лишь констатация фактов. К сожалению, в работе не поставлена задача установить, каковы механизмы происходящих процессов. Один из примеров – это изучение фазовых переходов в экстрагированных липидах мембраны методом дифференциальной сканирующей калориметрии. Полученные автором результаты в основном лишь подтверждают, что химические изменения в липидном составе сводятся главным образом к изменению насыщенности липидов и изменению свойств мембранны вследствие перекисного окисления липидов, а не к выявлению механизмов, приводящих к этим изменениям.

Следует также отметить, что в биологических мембранах фазовые переходы не наблюдаются – там происходит разделение фаз. В связи с этим более интересным было бы исследование методом дифференциальной сканирующей калориметрии переходов в мембранных фракциях, полученных из нормального и поврежденного нерва, а также исследование взаимодействия между мембранными липидами и белками мембранны в норме и при патологии.

Еще одно замечание – идентификация основных миелин-специфичных белков в мембранах нерва осуществлялась только на основе электрофореза в полиакриламидном геле. Однако это не специфическая идентификация, к сожалению, в нервной ткани имеется значительное количество белков со сходной иммунофоретической мобильностью. Для идентификации специфичных белков желательно использовать метод иммуноблоттинга с применением специфических антител, либо методы масс-спектрометрии.

Из минорных замечаний следует отметить, что в некоторых случаях автор пропустил в методах описание того, что именно использовалось для регистрации результатов (например, в описании подготовки проб для дифференциальной сканирующей калориметрии указано только количество используемого материала, но не тот факт, что использовались

экстрагированные липиды). В оформлении работы также есть некоторые изъяны: в качестве пожелания диссертанту можно рекомендовать тщательнее проверять расстановку запятых.

Все указанные недостатки работы не являются принципиальными для ее оценки как квалификационной работы, они скорее являются пожеланиями диссертанту для проведения будущих исследований.

**Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций.** Во-первых, автор представил сравнительные данные по составу липидов и белков мембранны соматического нерва в норме и при повреждении, и по динамике восстановления этих параметров в процессе регенерации нерва, а также и при воздействии на регенерацию возможного прообраза лекарственного препарата. Это новая и важная информация для планирования дальнейших исследований и возможного создания лекарственных препаратов. Во-вторых, исследование указывает на возможные механизмы происходящих процессов, что также позволит планировать дальнейшие исследования. Сама важность полученных результатов подтверждается актуальностью темы исследования.

**Заключение по анализу диссертационной работы.** На основании изложенного выше можно заключить, что 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. В результате проведенного исследования получены новые данные и возможные методы решения задач по исследованию регенерационных процессов в поврежденном периферическом нерве и влиянии на эти процессы с помощью таких биологически активных веществ как полифенолы и другие антиоксиданты. 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.

Отзыв обсужден и утвержден на совместном семинаре лаборатории  
физико-химии мембран и кафедры биохимии биологического факультета  
МГУ имени М.В.Ломоносова 27 октября 2020 года, протокол № 15.

Ведущий научный сотрудник кафедры  
биохимии биологического факультета  
Федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Московский  
государственный университет имени  
М.В. Ломоносова», доктор биологических наук,  
профессор

27.10.2020. *Лопина О.Д.*

Лопина О.Д.

Москва, 119234, Ленинские горы, д.1., стр.12  
e-mail od\_lopina@mail.ru, тел. 8-495-939-4434

