

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию **Кузьменко Татьяны Павловны** «Влияние клобетазола и семакса на содержание нейротрофических факторов, нуклеиновых кислот и состав белков при регенерации поврежденных соматических нервов», представленную в диссертационный совет 24.2.340.06 при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных

Актуальность темы исследования

Восстановление поврежденной нервной ткани является сложным процессом, включающим много молекулярно-клеточных стадий, в которые вовлечены нейротрофические факторы, синтез и деградация специфических белков и регуляция ДНК и РНК как в теле нейронов, так и, в аксонах и синапсах. Изучение изменений внутриклеточного содержания этих важнейших составляющих компонентов нейронов и вспомогательных клеток глии абсолютно необходимо для поиска ключевых молекулярных маркеров, отражающих степень и динамику регенерации нервной ткани. Детальные количественные исследования динамики перечисленных компонентов поврежденных нервов позволяет не только углубить понимание механизмов восстановления нервной ткани, но и найти новые терапевтические решения для лечения травм периферических нервов. Травмы периферической нервной системы могут существенно снижать качество жизни, приводя к стойким двигательным и сенсорным нарушениям. Повреждения седалищного нерва относятся к числу наиболее частых и приносящих сильнейшие болевые ощущения пациентам.

Поиск веществ, потенциально способных быть основой препаратов, помогающих регенерации поврежденной нервной ткани, можно разделить на два направления: (1) поиск новых веществ и (2) испытание хорошо зарекомендовавших себя средств по новому назначению. Диссертант пошла вторым путем и провела детальные исследования глюкокортикоида клобетазола и гептапептида «Семакс» на модели повреждения седалищного нерва крысы. Клобетазола и Семакс уже зарекомендовали себя как перспективные препараты, которые обладают выраженными противовоспалительными свойствами (клобетазол) и нейромодулирующими и ноотропными эффектами (Семакс). Более того, Семакс является отечественной разработкой, выполненной под руководством академиков Н.Ф.Мясоедова и В.И.Скворцовой.

В условиях, когда остро стоит вопрос импортозамещения, в том числе лекарственных средств, способствующих регенерации нервной ткани,

актуальность диссертационного исследования Т.П. Кузьменко не вызывает никакого сомнения.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, для науки и практики

Научная новизна диссертационной работы Татьяны Павловны заключается в том, что в ходе данного исследования диссертантом впервые выполнен сравнительный анализ нейротрофических факторов в неповреждённых нервах, а также при регенерации повреждённых нервных структур. Полученные данные позволяют глубже понять механизмы, происходящие при травме нервных волокон на хорошо отработанной модели повреждения седалищного нерва крысы. Исследование динамики ключевых компонентов нервного проводника даёт возможность лучше осмыслить процессы, происходящие при повреждении соматических нервов, особенно в начальной стадии дегенерации. Было установлено, что использование клобетазола и Семакса способствует восстановлению отдельных белковых фракций в повреждённом периферическом нерве. Ускорение процессов регенерации в нервном стволе и появление потенциала действия свидетельствуют о том, что клобетазол и Семакс могут быть полезны в клинической практике для восстановления повреждённых нервов.

Структура диссертации и автореферата

Диссертационная работа Кузьменко Татьяны Павловны «Влияние клобетазола и семакса на содержание нейротрофических факторов, нуклеиновых кислот и состав белков при регенерации поврежденных соматических нервов» изложена на 115 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы (глава 1), методической части (глава 2), экспериментальной части и его обсуждения (3 глава), заключения, выводов и списка литературы. Иллюстративный материал включает 49 рисунков и 1 таблицу. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертационной работы. Автореферат хорошо иллюстрирован и написан достаточно ясным языком, несмотря на изобилие терминов.

Во **Введении** обоснована актуальность исследования, формулируются цель и задачи работы, и положения, выносимые на защиту.

Задачи выстроены логично и каждый этап выглядит как реально выполнимый переход от изучения феномена к его регуляции с помощью выбранных фармакологических препаратов. Выбором таковых, а именно, глюкокортикоидного гормона клобетазола и гептапептидного фрагмента адренотропного гормона, «Семакса», обусловлены в первую очередь, новизна и научно-практическая ценность полученных результатов.

Выносимые на защиту положения достаточно полно представляют перечень и степень выполнения сформулированных задач.

В Главе **Обзор литературы** Татьяна Павловна основное внимание уделяет строению миелинизированного нервного волокна, а также белковому составу как аксона, так и миелиновой оболочки. Описаны современные взгляды о сигнальных путях, активизируемых при повреждении нерва и последующей его регенерации. Также автор уделяет особое внимание процессам модуляции нейротрофических сигнальных путей глюкокортикостероидом (клобетазол) и гептапептидом (семакс). В целом, из 142 цитированных работ 44 были опубликованы за последние 6 лет. Эта пропорция является, на наш взгляд, показателем того, что Т.П. Кузьменко регулярно следит за научными новостями в области ее научных интересов.

Глава **Материал и методы исследования** позволяет составить достаточно подробное описание схемы эксперимента и экспериментальных групп, что дает возможность воспроизвести проводимые автором эксперименты. В работе применены современные и адекватные поставленным задачам методы исследования: электрофоретическое разделение белков с последующим количественным анализом протейнограмм, Вестерн-блот, иммуноферментный анализ, регистрация потенциала действия, классическое определение содержания общего белка по Лоури, микроскопию в проходящем свете. Статистическая обработка результатов и сопоставлением с похожими литературными данными подтверждает их достоверность и достаточно высокий методический уровень диссертационного исследования.

Результаты представлены в главе 3 и наглядно проиллюстрированы. Установлено, что перерезка седалищного нерва сопровождается снижением содержания нейротрофических факторов и уровня ДНК, а также распадом белковой фракции травмированного нервного проводника в связи с интенсивным протеканием дегенерационных процессов.

На фоне действия клобетазола наблюдается увеличение количественного содержания ДНК, а также структурных белков нервного волокна и маркера аксонального роста – белка GAP-43. Установлено, что при действии Семакса отмечается усиленный синтез белков цитоскелета и снижение уровня GAP-43 как в проксимальном, так и в дистальном отрезке поврежденного седалищного нерва крысы.

С помощью метода регистрации потенциалов действия было выявлено восстановление нервной проводимости в проксимальном отрезке соматических нервов при введении семакса (37,5 мг/кг) и клобетазола (0,25 мг/кг), что коррелирует с полученными диссертантом данными по изменению

содержания нейротрофических факторов и состава белковой фракции травмированных нервных проводников на фоне действия препаратов.

В главе **Заключение** автор достаточно компактно, но не упуская основных достижений, излагает полученные результаты. К достоинствам этой заключительной части диссертационной работы можно отнести то, что Татьяна Павловна подытожила эту часть наглядной сравнительной схемой изменений, происходящих в соматическом (седалищном) нерве при его повреждении. Схема состоит из двух ветвей, одна из которых изображает процессы в контрольных условиях, а вторая выделяет эффекты клобетазола и Семакса на каждый основной фактор повреждения и регенерации нервного волокна.

Освещение диссертации в научной печати

Результаты диссертационного исследования Кузьменко Татьяны Павловны представлены на российских и международных конференциях, а также освещены в 16 научных публикациях, 4 из которых индексируются в WoS и Scopus, а также входят в перечень ВАК РФ.

Замечания по диссертации

1. На стр. 5 сказано: «Семакс проявляет ноотропный, нейротрофический, антигипоксический и другие эффекты, что делает его перспективным в разработке новых методов лечения нервных заболеваний (Королева, 2018;...), однако в Списке использованных источников такой работы не указано.
2. Не указаны источники первичных и вторичных антител для Вестерн-блот анализа белка GAP-43.
3. Рис.6 в Обзоре литературы. Не указан источник заимствования рисунка.
4. Примерно на трети рисунков действующая доза клобетазола и семакса указаны не в подписи к рисунку, а только в тексте, что замедляет анализ текста.
5. На рисунке 41 масштабный отрезок следовало отобразить более вразумительно, так, чтобы он был четко виден и диссертации, и в автореферате (Рис. 12 в автореферате).
6. Слишком детальное изложение выводов, затрудняющее их восприятие и напоминающее не выводы, а сжатое повторение результатов. Перечисление концентраций не усиливает впечатление от основных достижений работы, а лишь отвлекает внимание на числа. Выводы можно было бы сформулировать столь же кратко, как и Задачи исследования и Положения, выносимые на защиту.
7. В тексте указаны средние значения, но не приведены ошибки среднего и по какому количеству экспериментов получены данные.

Считаю необходимым отметить, что перечисленные выше замечания носят чисто технический характер, являются скорее советами по улучшению, чем констатацией серьезных ошибок и не влияют на научную ценность диссертационной работы, имеющей практическое и фундаментально-научное значение.

Заключение

Диссертация Кузьменко Т.П. на тему «Влияние клобетазола и семакса на содержание нейротрофических факторов, нуклеиновых кислот и состав белков при регенерации поврежденных соматических нервов», представляет собой сформированную научно-квалификационную работу на актуальную тему, имеющую важное значение для решения фундаментальных и прикладных задач физиологии. Полученные диссертантом результаты обладают научной новизной, имеют практическую и теоретическую значимость. Публикации автора полно отражают все полученные результаты. Содержание автореферата хорошо структурировано и отражает основные положения диссертационной работы.

Таким образом, считаю, что диссертационная работа Кузьменко Татьяны Павловны, представленная в совет 24.2.340.06 при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п. № 9 – 11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.), а её автор, Кузьменко Татьяна Павловна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

Сурин Александр Михайлович

д.б.н. (специальность 03.03.03 – Патологическая физиология),

гл. науч. сотр. Лаборатории фундаментальных и прикладных проблем боли
ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»

Адрес: 125315, Москва, Балтийская ул., д.8.

Тел: +7(499)151-17-56; e-mail: surin_am@mail.ru

 04.12.2024

Подпись д.б.н. Сурина А.М. заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «НИИОП»

К.М.Н.





Е.Н. Кожевникова