

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Владимира Израилевича Муронца на диссертацию Анастасии Станиславовны Балакиной на тему **«ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПИЩИ – АНТИОКСИДАНТОВ НА АКТИВНОСТЬ NRF2-РЕГУЛИРУЕМЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 - «Биохимия».

Актуальность диссертации А.С. Балакиной очевидна, так как использование разнообразных антиоксидантов в качестве профилактических и лекарственных средств является важным средством борьбы с разными патологиями. Однако, несмотря на огромное количество статей в этой области, мало работ, в которых прослеживается полная цепочка событий, начиная от поступления антиоксидантов в организм до их воздействия на конкретный молекулярный механизм. Есть явный разрыв между изучением влияния антиоксидантов на изолированные биомолекулы и работами, в которых отслеживают воздействие смеси разных низкомолекулярных соединений на развитие тех или иных патологических состояний. В заполнении этого разрыва и заключается цель представленной диссертации, хорошо спланированной и грамотно осуществленной.

Диссертационная работа А.С. Балакиной изложена на 150 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, заключения и выводов. Диссертация хорошо иллюстрирована 30 рисунками и 28 таблицами. Список литературы включает 272 источника, из которых 30 на русском и 242 на английском языках.

Во введении автор хорошо раскрывает актуальность исследования, хотя я бы предпочел более лаконичное изложение этого раздела.

В обзоре литературы в двух разделах ясно и конкретно описаны характеристики исследованных антиоксидантов, а также некоторые системы антиоксидантной защиты. Приведенной информации вполне достаточно, чтобы объяснить читателю особенности применения данных антиоксидантов и функционирования выбранной для изучения антиоксидантной системы. Конечно, оба раздела можно было изложить в более общей

форме, рассказав о всех природных антиоксидантах и о разнообразных антиоксидантных системах защиты, но выбранный подход представляется вполне разумным. Обзор хорошо написан и легко читается. Единственное замечание, возможно связанное с моими собственными научными интересами, касается отсутствия упоминания антиамилоидного действия куркумина и производных гидроксикоричной кислоты. Мне кажется, что проверить в дальнейшей работе влияние этих соединений на развитие нейродегенеративных заболеваний амилоидной природы было бы полезно. Имеющаяся в Институте питания база вполне позволяет сделать это, например, на достаточно простой модели болезни Паркинсона у крыс.

Раздел «Материалы и методы» написан очень подробно, что позволяет при необходимости проверить полученные результаты. Использованные методы адекватны и достаточно разнообразны. Также этот раздел показывает, какую большую и тщательную работу проделал диссертант. Большое внимание уделено статистической обработке результатов, что подтверждает их достоверность.

Описание результатов, данное в последующих главах, производит благоприятное впечатление, как по сути, так и по форме изложения. Особо следует отметить последний суммирующий рисунок, позволяющий наглядно оценить все полученные результаты. Основная особенность работы заключается в изучении совместного действия нескольких типов полифенольных соединений при их введении в пищевой рацион. В качестве тестируемых соединений были выбраны наиболее популярные вещества, изучению которых посвящено множество работ, как правило носящих чисто описательный характер без исследования молекулярных механизмов их воздействия. Было изучено влияние рутина, гесперидина, кверцетина, ресвератрола, куркумина и эпигаллокатехингаллата, причем как при отдельном введении, так и, что наиболее интересно и важно, при попарном введении. Именно совместное введение тестируемых соединений имеет особое значение, поскольку при частом применении комплексных препаратов полифенолов отдельные компоненты могут как усиливать, так и ослаблять действие друг друга. Это обстоятельство необходимо учитывать при получении биологически активных добавок. Для оценки влияния тестируемых полифенолов была выбрана основная молекулярная мишень, связанная с антиоксидантной защитой - транскрипционный фактор Nrf2, а также два фермента, являющихся маркерами его активации - NAD(P)H-хиноноксидоредуктаза (XR) и митохондриальная гемоксигеназа-1 (HO-1). Диссертантом были проведены две основные серии экспериментов - изучение влияния полифенольных соединений на антиоксидантную систему интактных животных, а также воздействие тех же соединений на животных, подвергшихся острому химическому стрессу. Хотя на первый взгляд может

показаться, что защита от химического стресса является более важным аспектом, однако именно способность полифенолов модулировать антиоксидантную защиту в нормальных условиях имеет наибольшее фундаментальное значение. Эти данные показывают, что полифенолы являются адаптогенами и могут быть использованы при различных типах стресса, а не только при исследованном в работе. Так, было показано, что включение в рацион интактных крыс полифенольных соединений и индол-3-карбинола и/или их сочетаний вызывает возрастание активности и экспрессии белков защитных антиоксидантных ферментов в печени крыс – ГО-1 и ХР. При этом экспрессии их мРНК практически не изменяется, то есть данные полифенолы влияют на посттранскрипционные стадии образования ферментов. При острой химической интоксикации некоторые из полифенолов (рутин, гесперидин, кверцетин и куркумин) влияют на экспрессию и активность обоих антиоксидантных ферментов, что свидетельствует о повышении адаптационного потенциала организма. Таким образом, в диссертационной работе была получена новая информация о влиянии некоторых полифенолов, включенных в пищевой рацион, на антиоксидантную систему животных, причем авторам удалось тщательно проследить всю цепочку событий - от влияния на транскрипционный фактор Nrf2 до изменения синтеза антиоксидантных белков и их активности. Конечно, молекулярные механизмы обнаруженных изменений еще потребуют дальнейшего изучения. Возможно, что одни полифенолы стимулируют или замедляют синтез антиоксидантных белков, а другие прямо воздействуют на их каталитическую активность, например, за счет предотвращения окисления важных для катализа аминокислотных остатков. Нельзя исключить также влияния полифенолов на синтез других белков, вовлеченных в антиоксидантную защиту. Однако важность уже полученных результатов, имеющих серьезное фундаментальное и практическое значение несомненна.

По диссертационной работе А.С. Балакиной есть небольшие замечания.

В разделе результаты слишком подробные заголовки и подзаголовки, которые дословно повторяются в первом абзаце, что стилистически не очень хорошо.

В нескольких экспериментах для расчета относительного количества исследованных белков используется определение содержания глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАФД) в образцах. Однако из приведенных электрофореграмм (рис. 12 и 14 ) следует, что антиоксиданты влияют не только на содержание изучаемых белков, но и на содержание ГАФД, которое автор использует в качестве контроля. Так как ГАФД тоже может участвовать в антиоксидантной защите, благодаря ее высокой концентрации и наличию высокореакционных сульфгидрильных групп, то нельзя

исключить влияние использованных воздействий и на этот фермент. Как минимум, следовало бы учесть влияние изменения концентрации ГАФД на рассчитываемые параметры, а в дальнейшей работе изучить роль ГАФД в исследуемых процессах.

В работе несколько раз встречаются рассуждения об изменении определенных параметров в процентном выражении, а затем указывается, что эти изменения статистически недостоверны. При статистически недостоверных изменениях нет смысла рассуждать о цифровых значениях этих изменений.

В тех случаях, когда активность ферментов возрастает, а их синтез падает (например, на стр. 78) следовало бы подробно обсудить возможные причины этого явления.

В отечественной литературе принято использование для глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы сокращение ГАФД, которое ввела в обращение профессор Н.К. Наградова, опубликовавшая по этому ферменту только в отечественной печати десятки статей и несколько книг.

Высказанные в отзыве замечания носят рекомендательный не умаляют ценности интересного и важного исследования, проведенного А.С. Балакиной.

Достоверность и значимость полученных результатов обусловлена грамотным использованием современных биохимических методов исследования, а также разумным планированием экспериментов и адекватной оценкой полученных результатов.

Выводы диссертационной работы научно обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам. Полученные результаты не вызывают сомнений в объективности и достоверности. Статистическая обработка данных проведена корректно с использованием современных методов.

В целом, результаты диссертационной работы характеризуются высокой степенью новизны и имеют высокую теоретическую и научно-практическую значимость.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, хорошо обоснованы и полностью подтверждены приведенными экспериментальными результатами.

Основные результаты диссертации опубликованы в научной печати и полностью отражают его положения. Так, по теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 4 журнальных статьи в изданиях, входящих в базу данных Scopus, Web of Science и список ВАК РФ.

Содержания автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Заключение. Диссертационное исследование Анастасии Станиславовны Балакиной «Влияние биологически активных веществ пищи - антиоксидантов на активность Nrf2-

регулируемых ферментов в печени крыс», является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи, важной для развития биохимии.

Работа полностью соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям, установленным Разделом 2 (п.9-14) «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации, от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), а её автор Анастасия Станиславовна Балакина заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 - «Биохимия».

Доктор биологических наук, профессор,

заведующий отделом биохимии животной клетки Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,

Контактные данные:

Адрес: Москва, 119992, Ленинские горы, дом 1, строение 40,

рабочий e-mail: [vimuronets@belozersky.msu.ru](mailto:vimuronets@belozersky.msu.ru)

рабочий телефон: +7(495) 939-14-56,

Специальность, по которой официальным оппонентом была защищена диссертация:

03.01.04 – «биохимия»

Владимир Израилевич Муронец



15 мая 2023г.

Подпись В.И. Муронца заверяю

и.о. директора

научно-исследовательского института

физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского

Московского государственного университета

имени М.В. Ломоносова

член-корреспондент РАН

 П.В. Сергеев

