

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования Первый Московский государственный медицинский  
университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения  
Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**УТВЕРЖДАЮ**

**Проректор по научной  
и инновационной работе ФГАОУ ВО  
Первый МГМУ им. И.М. Сеченова  
Минздрава России  
(Сеченовский Университет),  
академик РАН, д. м. н., профессор  
Авдеев С.Н.**

«16» мая 2023 г.



### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

О научно-практической значимости диссертационной работы  
Балакиной Анастасии Станиславовны на тему «Влияние биологически  
активных веществ пищи – антиоксидантов на активность Nrf2-регулируемых  
ферментов в печени крыс», представленной на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.4 «Биохимия»

#### **Актуальность темы выполненной работы и её связь с планами соответствующих отраслей науки**

Установление роли минорных биологически активных веществ (БАВ)  
пищи в регуляции метаболизма, расширении границ адаптационного  
потенциала организма человека и, как следствие, в сохранении здоровья  
населения является одной из приоритетных задач нутрициологии.

Особое значение для процессов адаптации имеет система  
антиоксидантной защиты, которая предохраняет клетку от повреждений,  
вызванных электрофильными соединениями и окислителями. Она  
контролируется транскрипционным фактором Nrf2, ферментами - маркерами  
активации которого являются NAD(P)H-хиноноксидоредуктаза и  
микросомальная гемоксигеназа-1.

В настоящее время к числу наиболее изучаемых БАВ относятся индол-  
3-карбинол и флавоноиды: кверцетин, рутин, гесперидин, ресвератрол,  
куркумин и эпигаллокатехингаллат. Данные, полученные в большинстве

случаев, в экспериментах *in vitro*, свидетельствуют о способности БАВ, в том числе флавоноидов и индолов, проявлять антиоксидантные свойства, но доказательства их антиоксидантного действия *in vivo* фрагментарны и имеют противоречивый характер. Как известно, одним из патогенетических звеньев развития различных заболеваний является окислительный стресс. Однако молекулярные механизмы *in vivo* сочетанного воздействия различных БАВ на антиоксидантный статус в условиях окислительного стресса до настоящего времени практически не изучены.

В свете всего вышеперечисленного, тема диссертационной работы Балакиной А.С. представляется высоко **актуальной** и имеющей большое значение для расширения наших знаний о молекулярных механизмах, лежащих в основе процессов влияния фактора питания на защитно-адаптационный потенциал организма.

Диссертационная работа Балакиной А.С. выполнена **в основном русле научных исследований**, проводимых в ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» в рамках темы НИР № 147 «Изучение молекулярных механизмов действия минорных биологически активных веществ пищи при их отдельном и сочетанном поступлении в организм» и направленных на установление роли минорных биологически-активных компонентов пищи в поддержании здоровья человека и в профилактике алиментарно-зависимых заболеваний, результатом чего является определение адекватных уровней потребления минорных БАВ с пищевым рационом.

#### **Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций**

В числе наиболее важных результатов диссертации Балакиной А.С., обладающих научной новизной, можно отметить следующие.

Автором впервые в эксперименте *in vivo* было показано, что сочетанное действие рутина и гесперидина приводит к двукратному аддитивному эффекту на экспрессию белка гемоксигеназы-1. Установлено, что совместное действие кверцетина и ресвератрола умеренно активизирует NAD(P)H-хиноноксидоредуктазу и микросомальную гемоксигеназу-1, повышая экспрессию их белков. Совместное введение куркумина и кверцетина, а также индол-3-карбинола и эпигаллокатехингаллата приводит к избирательному возрастанию активности гемоксигеназы-1.

Впервые обнаружено, что рутин отдельно и совместно с гесперидином при поступлении в составе рациона снижают степень окислительного стресса, индуцированного  $CCl_4$ .

Полученные данные свидетельствуют, что регуляция активности антиоксидантных ферментов гемоксигеназы-1 и NAD(P)H-

хинооксидоредуктазы в печени под влиянием БАВ пищи полифенольной природы и индол-3-карбинола у здоровых животных и на модели острого окислительного стресса может осуществляться как за счет влияния на экспрессию их генов с участием Nrf2/Keap1/ARE сигнального пути, так и на посттранскрипционном уровне.

Таким образом, как следует из вышеизложенного, результаты исследования Балакиной А.С. обладают несомненной научной новизной мирового уровня.

### **Теоретическая и практическая значимость полученных автором результатов**

На основании результатов исследования, проведенного в работе Балакиной А.С., было обосновано включение изученных БАВ пищи в «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» (МР 2.3.1.0253—21).

Полученные автором данные, касающиеся комбинированного действия БАВ пищи полифенольной и индольной природы в различных сочетаниях на систему ферментов антиоксидантной защиты могут быть использованы при научном обосновании рецептур многокомпонентных БАД.

Полученные в ходе исследований результаты воздействия минорных БАВ пищи на уровни активности антиоксидантных ферментов гемоксигеназы-1 и NAD(P)H-хинооксидоредуктазы и экспрессии их белков и генов внедрены в учебный процесс кафедры гигиены питания и токсикологии ФГАОУ ВО «ПМГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет) и кафедры Медицинской элементологии Медицинского института РУДН.

### **Структура и основное содержание работы**

Диссертационная работа Балакиной А.С. построена по традиционной схеме и состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований и обсуждение (две главы), выводы, список сокращений и список литературы, который включает 272 источника, из них 30 на русском и 242 – на иностранных языках. Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста, содержит 28 таблиц и 30 рисунков.

Во «Введении» автор раскрывает актуальность выбранной темы исследования, формулирует цели и задачи диссертационной работы, а также приводит ключевые характеристики работы, включающие научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, положения, выносимые на защиту и апробацию результатов. Целью исследования является изучение влияния некоторых минорных БАВ пищи – антиоксидантов на активность,

экспрессию генов и белков Nrf2-регулируемых ферментов в печени крыс при их отдельном и комбинированном поступлении в организм здоровых интактных животных и на модели окислительного стресса, вызванного введением четыреххлористого углерода. При этом были поставлены следующие задачи:

- в экспериментах *in vivo* у крыс изучить влияние индивидуального и комбинированного действия БАВ пищи – ряда природных антиоксидантов (рутина, гесперидина, кверцетина, ресвератрола, куркумина, эпигаллокатехингаллата, индол-3-карбинола) на активность, экспрессию генов и белков Nrf2-регулируемых ферментов – гемоксигеназы-1 и NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы в печени крыс.

- исследовать эффекты индивидуального и комбинированного действия рутина, гесперидина, кверцетина, ресвератрола, куркумина, эпигаллокатехингаллата, индол-3-карбинола на экспрессию гена и белка транскрипционного фактора Nrf2 в печени крыс.

- на модели окислительного стресса, вызванного CCl<sub>4</sub>, изучить *in vivo* влияние индивидуального и комбинированного действия БАВ пищи - антиоксидантов (рутина, гесперидина, кверцетина, куркумина) на экспрессию гена и белка транскрипционного фактора Nrf2 и на активность и экспрессию генов и белков Nrf2-регулируемых ферментов – гемоксигеназы-1 и NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы в печени крыс.

Глава «Обзор литературы» состоит из двух разделов. Первый посвящен природным антиоксидантам, как экзогенным регуляторам адаптационного потенциала организма. Во втором разделе автор описывает современные данные о системе антиоксидантной защиты и способах ее регуляции. Обзор литературы заканчивается кратким заключением, позволяющим обосновать цель и задачи исследования и применяемую в нем методологию.

В «Экспериментальной части» представлены основные результаты работы, сгруппированные в соответствии с поставленными задачами.

В главе «Материалы и методы» автор детально описывает применяемые в работе методы исследования, включая биохимические, протеомные (вестерн-блоттинг) и геномные (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени), методы статистической обработки данных. Совокупность выбранных методов полностью соответствует задачам исследования. На основании материала данного раздела можно заключить, что экспериментальная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием современных методов.

В третьей главе представлены результаты изучения влияния минорных БАВ пищи – антиоксидантов, на активность, экспрессию белков и генов

Nrf2-регулируемых ферментов в печени крыс при их отдельном и сочетанном поступлении в организм здоровых животных. Эта глава включает в себя результаты четырех экспериментов, где в состав рациона крыс отдельно и в комбинации вводили следующие соединения: рутин и гесперидин; кверцетин и ресвератрол; куркумин и кверцетин; индол-3-карбинол и эпигаллокатехингаллат.

В четвертой главе представлены данные изучения влияния минорных БАВ пищи – антиоксидантов, на активность, экспрессию белков и генов Nrf2-регулируемых ферментов в печени крыс при их отдельном и сочетанном поступлении в организм на модели острого токсического действия четыреххлористого углерода. Эффекты БАВ на модели окислительного стресса были изучены в двух экспериментах, где животные с рационом получали рутин и гесперидин, а так же куркумин и кверцетин.

После изложения результатов каждого эксперимента автором проводится их интерпретация и сравнение с имеющимися в научной литературе данными публикаций на сходные темы. Высказываются обоснованные собственными и литературными данными гипотезы о способности БАВ полифенольной и индольной природы участвовать в регуляции активности антиоксидантных ферментов гемоксигеназы-1 и NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы в печени у здоровых животных и на модели острого окислительного стресса как за счет Nrf2/Keap1/ARE сигнального пути, так и на посттранскрипционном уровне.

По результатам исследования Балакиной А.С. сформулированы 9 выводов и 4 положения, выносимые на защиту. Выводы диссертации логично вытекают из проделанной работы, соответствуют поставленным во «Введении» задачам исследования и необходимым образом отражают полученные результаты. Положения, выносимые на защиту, в достаточной степени характеризуют авторскую научную позицию по существу проделанных исследований.

#### **Обоснованность результатов и выводов исследования**

Результаты диссертации Балакиной А.С. получены на современном, высокоточном, поверенном оборудовании, с использованием высокотехнологичных, высокопроизводительных, чувствительных и специфичных методов. Методы, использованные при определении количественных индикаторов, метрологически валидированы. Аналитические тесты проведены с достаточным количеством технических повторов, результаты статистически обработаны. Экспериментальная часть исследования на животных выполнена на достаточном для целей работы объеме материала. Этические нормы при проведении исследований на

животных соблюдены, дизайн биологических экспериментов одобрен Комитетом по этике. Полученные результаты обсуждены автором с привлечением данных современной научной литературы, удовлетворяющих критериям научной непротиворечивости и полноты. Достоверность и обоснованность выводов из исследования и сделанных рекомендаций не вызывает сомнения.

Выводы и практические рекомендации научно обоснованы, соответствуют задачам диссертационной работы и опираются на достаточный для исследования практический материал. В работе использованы методы сбора, статистической обработки, анализа материала, которые позволяют считать результаты исследования и выводы, полученные на основании этих результатов, значимыми. Это свидетельствует о научной ценности заключений диссертанта и выводов ее диссертационной работы. Выводы вытекают из основных результатов исследования, сформулированы корректно.

#### **Оценка публикаций по теме исследования**

По теме диссертации Балакиной А.С. опубликовано 13 печатных работ, в том числе четыре статьи в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Результаты исследований по теме диссертации доложены и обсуждены на четырех Всероссийских и одной международной научных конференциях. Тематика всех включенных в список публикаций соответствует теме диссертационного исследования. Профиль журналов, в которых представлены публикации, соответствует специальности «биохимия».

**Автореферат** диссертационной работы Балакиной А.С. содержит все необходимые разделы, и в полной мере отражает содержание проведённого автором исследования.

#### **Личный вклад автора**

Как следует из данных, представленных в диссертации и автореферате, личный вклад автора – Балакиной А.С. в выполнение диссертационной работы не вызывает сомнений, является значительным и масштабным, и включает проведение исследований, анализ, интерпретацию и обобщение полученных экспериментальных данных. Личный вклад автора в достаточной степени отражен в тексте диссертации и автореферате.

#### **Соответствие содержания диссертации паспорту специальности**

Содержание диссертационной работы Балакиной А.С. на тему «Влияние биологически активных веществ пищи – антиоксидантов на активность Nrf2-регулируемых ферментов в печени крыс» соответствует п. 10 «Теоретические и прикладные проблемы природы и закономерностей

химических превращений в живых организмах, молекулярных механизмов интеграции клеточного метаболизма, связей биохимических процессов с деятельностью органов и тканей, с жизнедеятельностью организма для решения задач сохранения здоровья человека, животных и растений, выяснения причин различных болезней и изыскания путей их эффективного лечения. Развитие методов генодиагностики, энзимодиагностики и научных принципов генотерапии и энзимотерапии», п. 12 «Механизмы и закономерности обмена веществ в организме человека, животных, растений и микроорганизмов. Клиническая биохимия человека и животных. Биохимия питания человека, животных, растений и микроорганизмов. Изучение химической и микробиологической безопасности продуктов биологического происхождения», п. 13 «Проблемы превращения и обезвреживания ксенобиотиков. Молекулярные основы превращений искусственных материалов под влиянием живых организмов. Биохимические проблемы экологии» паспорта специальности 1.5.4 Биохимия.

#### **Замечания по диссертационной работе**

При чтении диссертации Балакиной А.С. принципиальных замечаний по содержанию работы, сути полученных результатов, новизне, научно-теоретической и научно-практической значимости у меня не возникло.

Однако, считаю целесообразным получить ответы диссертанта на следующие вопросы:

1. На каком основании были осуществлены подходы к выбору конкретных сочетаний БАВ в экспериментах?
2. В настоящее время существует ряд моделей развития окислительного стресса с использованием различных химических агентов. Почему была выбрана именно модель индукции окислительного стресса тетрахлорметаном?

Хочу отметить, что данные вопросы не касаются сути выполненных Балакиной А.С. исследований и не снижают высокую оценку работы в целом.

#### **Заключение**

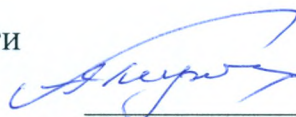
Диссертационная работа Балакиной Анастасии Станиславовны на тему «Влияние биологически активных веществ пищи – антиоксидантов на активность Nrf2-регулируемых ферментов в печени крыс», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 Биохимия, является законченным и самостоятельным исследованием, в котором решена важная и актуальная задача современной биохимии питания.

По своей актуальности, объему выполненных работ, содержанию представленных материалов, научной и практической значимости,

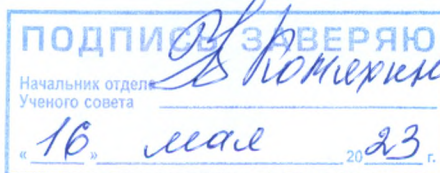
методическому уровню, новизне и степени внедрения, сделанным выводам и практическим рекомендациям диссертация полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Балакина Анастасия Станиславовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 Биохимия.

Отзыв о научно-практической значимости диссертационной работы обсужден и одобрен на совместном заседании кафедры биологической химии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) «15» мая 2023 года (протокол № 1)

Заведующий кафедрой  
биологической химии ФГАОУ ВО  
Первый МГМУ имени И.М.  
Сеченова Минздрава России  
(Сеченовский Университет),  
д. б. н., профессор по специальности  
«Биохимия»



Глухов Александр  
Иванович



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), адрес официального сайта в сети «Интернет»: <https://www.sechenov.ru/>

119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Телефон: +7 (495) 609-14-00, e-mail: [rektorat@sechenov.ru](mailto:rektorat@sechenov.ru),  
[expedition@mma.ru](mailto:expedition@mma.ru)