

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента**

**члена-корреспондента РАН, профессора РАН, доктора медицинских наук**

**Перцова Сергея Сергеевича**

**на диссертационную работу Балакиной Анастасии Станиславовны**

**«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 темы исследования**

Экспериментальные и клинические исследования последних лет свидетельствуют о том, что антиоксидантные свойства биологически активных веществ (БАВ) пищи, в частности полифенолов, могут потенциально предотвращать неинфекционные заболевания или служить средством положительной коррекции их течения.

Одним из патогенетических звеньев развития многих заболеваний является дисбаланс между активными формами кислорода и способностью клеточной системы их нейтрализовать. Защиту клетки от повреждений различными окислителями осуществляет система антиоксидантной защиты, контролируемая транскрипционным фактором Nrf2 и регулируемые им ферментами - маркерами NAD(P)H-хиноноксидоредуктазой и митохондриальной гемоксигеназой-1.

Минорные составляющие рациона питания современного человека могут оказывать значительное влияние на биотрансформацию эндогенных и экзогенных оксидантов. Однако механизмы, лежащие в основе динамического равновесия нутриома, ранее не учитывались при оценке питания.

Поэтому тема диссертационной работы Балакиной А.С. представляется высоко актуальной и имеющей большое значение для расшифровки роли БАВ и их комбинаций в поддержании защитно-адаптационного потенциала организма, а также для расширения знаний современной нутрициологии о молекулярных механизмах, лежащих в основе действия минорных БАВ пищи при алиментарно-зависимой патологии.

Данное исследование по методологическим подходам, использованным методам, трактовке полученных результатов в полной мере соответствует заявленной научной специальности – 1.5.4 – Биохимия.

### **Новизна исследования**

В результате проведенных Балакиной А.С. исследований получены новые знания о влиянии минорных компонентов пищи на регуляцию ферментов антиоксидантной защиты у здоровых животных и на модели острого токсического действия четыреххлористого

углерода, что может быть опосредовано сигнальным путем Nrf2/Keap1/ARE или осуществляться на посттранскрипционном уровне.

Автором впервые в эксперименте на здоровых интактных крысах Вистар была показана способность рутина, как отдельно, так и в комбинации с гесперидином усиливать активность ключевого фермента антиоксидантной защиты NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы; при совместном включении в рацион рутина и гесперидина обнаружен двукратный аддитивный эффект на экспрессию белка митохондриальной гемоксигеназы-1. В эксперименте *in vivo* совместное действие кверцетина и ресвератрола умеренно активизирует экспрессию белков изученных антиоксидантных ферментов. Наряду с этим, комбинирование включения в рацион куркумина и кверцетина, а также индол-3-карбинола и эпигаллокатехингаллата приводит к избирательному возрастанию активности гемоксигеназы-1.

На модели токсического действия четыреххлористого углерода впервые обнаружено, что рутин отдельно и совместно с гесперидином снижают степень окислительного стресса путем модулирующего влияния на активности и экспрессию генов антиоксидантных ферментов.

#### **Теоретическая и практическая значимость результатов исследования**

Результаты исследований соискателя были использованы при составлении «Норм физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» (МР 2.3.1.0253—21).

Новые данные о комбинированном действии изученных БАВ пищи могут быть использованы при составлении рецептов и научном обосновании многокомпонентных БАД.

Результаты диссертационной работы Балакиной А.С., указывающие на взаимосвязи активности, экспрессии белков и генов антиоксидантных ферментов при воздействии БАВ пищи, внедрены и используются в лекционных курсах кафедры гигиены питания и токсикологии ФГАОУ ВО «ПМГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России и кафедры Медицинской элементарной Медицины Медицинского института РУДН.

#### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Работа выполнена на достаточном количестве материала: в шести экспериментальных исследованиях было использовано 208 самцов крыс линии Вистар. Исследования на животных выполнены в соответствии с требованиями, изложенными в Национальных стандартах РФ ГОСТ 33647-2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и ГОСТ 33216—2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Содержание лабораторных животных осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных

животных, используемых в экспериментах и других научных целях (Совет Европы, Страсбург, 2004 г).

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточными объемами выборки при проведении экспериментов, что позволило соискателю корректно провести статистический анализ данных, с использованием комплекса методов статистики.

В целом, рассматриваемая диссертационная работа является завершенным исследованием, которое отличается новизной, имеет научную и практическую значимость. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы. Положения, выносимые на защиту в форме научных утверждений, характеризуют большой личный вклад соискателя в решение научной проблемы.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа Балакиной А.С. изложена на 150 страницах машинописного текста, содержит 28 таблиц и 30 рисунков. Диссертация 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 английском языках.

Во введении автором обозначены актуальность темы исследования и ее современное состояние в мировой науке, грамотно сформулирована цель и соответственно ей поставлены задачи диссертационного исследования, отмечена научная новизна и практическая значимость работы, личный вклад автора при выполнении исследования и положения, выносимые на защиту, а также широко проведенная апробация результатов на научных конференциях.

Обзор литературы состоит из двух разделов. Он характеризуется высоким уровнем информативности, шириной и глубиной проработки материала по вопросам регуляции адаптационного потенциала организма природными антиоксидантами, в свете современных данных о способах регуляции системы антиоксидантной защиты. Краткое заключение обзора литературы позволяет обосновать цель и задачи исследования и применяемую в нем методологию.

Вторая глава «Материалы и методы» включает подробное описание экспериментальных этапов и методов исследования (биохимические, протеомные и геномные), а также методов статистической обработки полученных данных. Совокупность выбранных методик и экспериментальных подходов позволяет оценить выполненную работу на высоком научно-методическом уровне с использованием современных методов.

В третьей и четвертой главах представлены результаты собственных исследований. В них автор последовательно раскрывает особенности влияния рутина и гесперидина; кверцетина и ресвератрола; куркумина и кверцетина; индол-3-карбинола и

эпигаллокатехингаллата на активность, экспрессию белков и генов Nrf2-регулируемых ферментов в печени крыс при их раздельном и сочетанном поступлении в организм здоровых животных и на модели острого токсического действия четыреххлористого углерода. Интерпретация и сравнение с имеющимися в научной литературе данными проводится автором после изложения результатов каждого эксперимента. Следует отметить, что выбранная система изложения и ее порядок являются логичными и способствуют пониманию изучаемого вопроса.

Сформулированные 9 выводов и 4 положения, выносимые на защиту, являются итогом проделанной работы. В них обобщены и проанализированы результаты экспериментальных данных, сделанные заключения соответствуют поставленным цели и задачам диссертационного исследования.

#### **Полнота изложения результатов диссертации в опубликованных работах**

По теме диссертации Балакиной А.С. опубликовано 13 работ, в том числе 4 статьи в научных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Автореферат полностью отражает содержание диссертации, соответствует требованиям к его форме и содержанию. Материалы диссертации были представлены на четырех Всероссийских и одной международной научных конференциях. Опубликованные работы содержат достаточно полные сведения о выполненном исследовании.

#### **Замечания и вопросы по диссертационной работе**

Принципиальных замечаний по диссертационной работе Балакиной А.С. не возникло. В тексте диссертации имеется несколько опечаток и стилистических ошибок, на которые было обращено внимание соискателя.

Кроме того, в литературном обзоре излишне детально изложены эффекты изученных БАВ пищи на клеточные системы *in vitro* (раздел 1.1), представлены сведения, которые можно было не указывать.

В дополнение к сказанному, в тексте диссертации при описании статистического анализа данных, а именно – межгрупповых различий, автором не указано, какой метод обработки результатов использован в каждом конкретном случае.

Следует отметить, что число выводов к диссертационной работе является слишком большим: 9 выводов при наличии 3 поставленных задач исследования. Представлялось бы более целесообразным объединение некоторых выводов (возможно, 4-го и 5-го выводов; 7-го и 8-го выводов) с попыткой обобщения полученных экспериментальных данных.

В результате рецензирования возник вопрос дискуссионного характера: каким образом обосновывался выбор доз БАВ, которые, как можно понять из содержания работы, значительно превосходят используемые в питании человека при расчете на единицу массы тела?

Необходимо подчеркнуть, что отмеченные замечания и комментарии не снижают достоинств и качества проделанной работы.

### Заключение

Таким образом, диссертационная работа Балакиной Анастасии Станиславовны «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, представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение актуальной научной задачи – изучение влияния 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. По содержанию, актуальности темы, научной новизне и практической значимости диссертация соответствует критериям, установленным п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных 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.

Директор ФГБНУ "НИИНФ им. П.К. Анохина",  
Заслуженный деятель науки Российской Федерации,  
член-корреспондент РАН, профессор РАН,  
доктор медицинских наук

Перцов С.С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина»  
(ФГБНУ "НИИНФ им. П.К. Анохина")

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

Тел.: +7 495 601-22-45, E-mail: [nphys@nphys.ru](mailto:nphys@nphys.ru), сайт: <https://nphys.ru/>

Дата: «25» сентября 2023 г.