

Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Марсовой Марии Викторовны
«ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛАКТОБАЦИЛЛ И
УСТАНОВЛЕНИЕ ВОЗМОЖНЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
ЕГО РЕАЛИЗАЦИИ», представленной на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика

Оксидативный стресс в настоящее время считается одним из основных пусковых механизмов для целого ряда хронических патологий, таких как диабет, сердечно-сосудистые, онкологические и нейродегенеративные заболевания. Причиной возникновения оксидативного стресса является дисбаланс между накоплением активных форм кислорода в клетках и тканях и способностью биологической системы выводить и нейтрализовать свободные радикалы. Состояние оксидативного стресса может быть индуцировано воздействием множества негативных факторов окружающей среды: инфекционными агентами, широким спектром химических веществ различной природы и другими стрессорными воздействиями. Несмотря на то, что в настоящее время проблеме оксидативного стресса посвящено значительное количество исследований, не решенными остается масса вопросов как теоретического, так и чисто прикладного плана. Диссертационная работа Марии Викторовны Марсовой «Характеристика антиоксидантного потенциала лактобацилл и установление возможных молекулярно-генетических факторов его реализации» является в своем роде пионерской, демонстрируя оригинальные подходы и пути для дальнейших фундаментальных и прикладных исследований в этой области.

В процессе выполнения диссертационной работы автором впервые исследован антиоксидантный потенциал штаммов из репрезентативной коллекции лактобацилл, выделенных от клинически здоровых людей и поддерживаемой ИОГен РАН. На основе анализа антиоксидантных свойств были определены наиболее перспективные для разработки профилактических и лечебных препаратов штаммы лактобацилл. Впервые тщательно проанализированы геномы отобранных штаммов лактобацилл и выявлены гены, ответственные за проявление антиоксидантных свойств, что в свою очередь позволило составить каталог генов, способных оказывать влияние на проявление антиоксидантных свойств микроорганизмами. Так же приоритетный характер носят исследования диссертанта по изучению протективных свойств изучаемых штаммов при воздействии индуцированного оксидативного стресса на моделях лабораторных животных – мышцах линий Balb/c и C57/BL6, крысах породы Вистар и почвенных нематодах *Caenorhabditis elegans*. Результаты этих экспериментов свидетельствуют о перспективности использования данных штаммов лактобацилл в качестве исходного материала при разработке физиологичных и безопасных лекарственных препаратов.

Диссертационная работа Марсовой М.В. построена по традиционному плану и содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и Методы», «Результаты и их обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список используемых сокращений», «Список цитируемой литературы», а также «Приложение», содержащее четыре таблицы. Работа изложена на 229 страницах машинописного текста, включает 19 таблиц и 30 рисунков. Список цитируемой литературы включает 333 публикации.

Раздел «Введение» полностью соответствует названию диссертации, в нем четко очерчен круг проблем стоявших перед диссертантом, а также приведены сведения, необходимые для понимания рассматриваемых вопросов.

В разделе «Обзор литературы» рассмотрен широкий круг вопросов, имеющих непосредственное отношение к диссертационной работе. Достаточно подробно приведены сведения о современной классификации бактерий рода *Lactobacillus*, их экологии и физиологии, структуре генома и биохимических свойствах. Особое внимание автор уделил анализу факторов, влияющих на антиоксидантную активность лактобацилл. Значительное внимание уделено рассмотрению вопросов патогенеза и существующим моделям для изучения окислительного стресса, его роли в развитии заболеваний. Раздел «Обзор литературы» хорошо проиллюстрирован рисунками и таблицами, а список из 333 цитированных публикаций говорит о глубокой проработке автором современной научной литературы по теме исследования.

В разделе «Материалы и методы» подробно описан широкий спектр классических и современных микробиологических, генетических, биохимических, статистических и биоинформатических методов, использованных автором в работе.

В основном разделе диссертационной работы «Результаты и обсуждение» подробно описаны полученные автором принципиально новые данные. По результатам скрининга репрезентативной коллекции, для дальнейшего изучения, были выбраны два штамма лактобацилл: *Limosilactobacillus fermentum* LfU21 и *Levilactobacillus brevis* 47f. Критериями отбора служило наиболее активное влияние на референсные параметры используемых тест-систем. Приведены подробные биохимические и молекулярно-генетические характеристики этих штаммов.

В результате анализа генома штамма *L.fermentum* LfU21, обнаружено 24 гена, способных влиять на проявление АО свойств, а именно: гены белков тиоредоксиновой системы, гены белков синтеза и транспорта глутатиона, гены транспорта и хелатирования тяжелых (двухвалентных) металлов, а также транскрипционных факторов, не характерных для данного вида лактобацилл.

Для штамма *L. brevis* 47f показано большее количество генов синтеза и метаболизма глутатиона, чем у других штаммов этого вида (5 генов, в отличие от 2-3х в других доступных геномах *L. brevis*). Два из них - редко встречающиеся (не характерные) гены

глутаредоксин-подобного белка NrdH и глутатион редуктазы/НАД(Ф)/ФАД-зависимой оксидоредуктазы. Также, геном штамма содержит не часто встречающийся ген липидкиназы, способной участвовать в активации Nrf2-сигнального пути активации собственного АО ответа организма хозяина. Значительное количество (по сравнению с другими штаммами того же вида) генов оксидаз/оксидоредуктаз тоже способно влиять на АО потенциал исследуемого штамма. Также, в геноме обнаружена последовательность гена пермеазы, редко встречающегося у *L. brevis* белка (обнаружена только в 4-х геномах из 90 доступных), входящая в состав гипотетического оперона с другими белками активного транспорта метаболитов. При этом, основной механизм проявления АО активности штамма, по мнению автора, связан с синтезом глутатиона.

Проведенные эксперименты дали возможность утверждать, что штаммы *Limosilactobacillus fermentum* LfU21 и *Levilactobacillus brevis* 47f показавшие высокий уровень антиоксидантной активности и протекторного действия на различных моделях *in vivo* могут рассматриваться, как перспективные кандидаты для разработки препаратов-фармабиотиков для профилактики и комплексной терапии различных состояний и расстройств, ассоциированных с развитием оксидативного стресса, а так же для разработки лечебных функциональных продуктов питания.

Полученные автором экспериментальные данные не вызывают ни малейшего сомнения, их объективность подтверждается большим количеством контрольных экспериментов, которые проводились на каждом этапе работы. Выводы диссертационной работы логично вытекают из полученных автором результатов.

Основные результаты исследований опубликованы в научных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, и иностранных рецензируемых журналах. По результатам работы зарегистрировано 4 патента РФ. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Диссертационная работа М.В.Марсовой относится к не часто встречаемой категории работ не имеющих существенных недостатков, тем не менее, считаю необходимым сделать некоторые замечания, которые не изменяют общего положительного мнения о работе.

1. Диссертант делает весьма распространенную ошибку, называя линией крыс Вистар. Вистар это не линия, а порода.
2. При исследовании антиоксидантной активности в крови желательно не останавливаться на измерении одного лишь малонового диальдегида, а дополнительно определять уровни содержания каталазы и супероксиддисмутазы, что дает более объективные результаты.

Диссертационная работа Марсовой М.В. представляет собой самостоятельный научный труд, в котором решаются задачи, имеющие существенное значение для

генетики, микробиологии и практической медицины. Достоверность и обоснованность экспериментальных результатов и выводов не вызывает сомнения. В целом, работа соответствует требованиям ВАК РФ и Постановлению Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г «О порядке присуждения научных степеней», предъявляемым к кандидатских диссертациям, а ее автор, Марсова Мария Викторовна, безусловно, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика.

Кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник
НИЦ "Курчатовский институт",
Курчатовский комплекс генетических исследований
(НИЦ "Курчатовский институт" – ГосНИИгенетика)
+79859832258, kyegene@gmail.com

Козловский Юрий Евгеньевич

Верно

Заместитель директора
по международному
сотрудничеству и
кадрам

Сороко Андрей
Викторович

ПОДПИСЬ



Дата

М.П. (ГЕРБОВАЯ)

29.04.2022