

**ОТЗЫВ официального оппонента
о диссертации на соискание ученой степени доктора
химических наук Генералова Евгения Александровича
на тему: «Биохимические основы биомедицинского
применения полисахаридов из клубненосных растений»
по специальности 1.5.4. Биохимия**

Актуальность темы диссертации

В глобальном масштабе фиксируется увеличение распространенности патологических состояний, что потенциально коррелирует со снижением терапевтической эффективности фармакологических препаратов и стандартизированных лечебных стратегий. В связи с этим возникает необходимость поиска новых лекарственных средств, изучения механизмов их биологической активности и разработка на этой основе новых подходов к лечению больных, особенно в случаях тяжелых заболеваний. Одним из перспективных направлений является поиск биологически активных природных соединений, в частности, полисахаридной природы. Полисахариды имеют чрезвычайно широкий спектр биологических активностей и играют важнейшую роль в структурной организации различных организмов, в энергетическом обмене, а также в механизмах многих заболеваний и развитии соответствующего иммунного ответа.

Диссертационная работа Е.А. Генералова выполнена на стыке гликобиологии и современной биомедицины и соответствует приоритетным направлениям исследований в этих областях, а именно, поиску новых биологически активных природных соединений, исследованию биохимических и молекулярно-биологических механизмов их действия и возможностей их использования в терапевтических целях. В работе проведено комплексное исследование полисахаридных комплексов, полученных из картофеля (STP) и топинамбура (HTLP), которое позволило не только установить типы биологической активности этих соединений, но и выявить, какими их физико-химическими характеристиками эти активности обусловлены, что полностью соответствует основным направлениям

биохимических и биомедицинских исследований перспективных природных соединений. Это, в свою очередь, создает фундаментальную и практическую базу для разработки новых эффективных средств, которые могут быть в перспективе использованы в терапии социально значимых заболеваний. Таким образом, актуальность темы диссертации несомненна.

Структура и содержание диссертации

Диссертация Е.А. Генералова представляет собой законченное исследование. Она хорошо структурирована и состоит из введения, трех глав, заключения, основных результатов и выводов, списка литературы. Работа изложена на 260 страницах, включает 18 таблиц, 64 рисунка. Список цитируемой литературы содержит 518 источников.

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, описаны теоретическая и практическая значимость результатов, приведены положения, выносимые на защиту.

Первая глава содержит очень хороший и полный обзор научной литературы по теме диссертации. Описаны структуры углеводов и их биологические активности, включая подробное описание рецепторов, участвующих в их проявлении.

Вторая глава посвящена детальному описанию использованных материалов и методов исследования. Многочисленные и разнообразные методы исследования структуры и свойств полисахаридов хорошо известны, а их четко обоснованное применение с последующей адекватной статистической обработкой обеспечили достоверность полученных данных. Особо следует отметить тщательную проверку биобезопасности STP и HTLP в различных моделях.

Третья глава содержит изложение полученных результатов и их обсуждение. Все экспериментальные результаты описаны очень подробно, хорошо иллюстрированы и критически проанализированы. Глава разделена на две части. В первой части приведены результаты исследований физико-

химических свойств полисахаридов. HTLP идентифицирован как высокомолекулярный полисахарид с молекулярной массой 1–2 МДа и примесным содержанием белка (около 0,5%), а STP – как гликопротеин средней молекулярной массы (около 70 кДа) с содержанием белка до 9%. В структурном анализе использованы различные спектроскопические методы, включая спектроскопию гигантского комбинационного рассеяния, хроматографические методы, гель-электрофорез, атомно-силовую микроскопию, биохимические методы, включающие обработку ферментами.

Вторая часть третьей главы содержит результаты исследования различных видов биологической активности STP и HTLP и их молекулярно-биохимических механизмов. Для обоих полисахаридных комплексов установлена статистически значимая митогенная активность, связанная с образованием антителообразующих клеток в селезенке. В противовоспалительных моделях активности STP и HTLP несколько различались. Так, в модели формалинового отека HTLP был эффективен, а STP – нет, в то время как в модели карманной гранулемы STP по активности превосходил HTLP. STP проявил выраженную противовирусную активность в модели инфекции SARS-CoV-2 у сирийских хомячков *in vivo*, а также был эффективен в моделях хронической и острой язвы желудка. В моделях протонного и рентгеновского облучения HTLP продемонстрировал выраженные радиопротекторные свойства.

Анализ экспрессии генов в клетках THP-1 показал комплексную модуляцию противовоспалительных, апоптотических и антиоксидантных путей. Для HTLP было экспериментально показано, что его способность индуцировать экспрессию TNF- α в клетках RAW 264.7 полностью зависит от совместной активации рецепторов Dectin-1 и TLR-2/6, и это было подтверждено как методами нокаута генов этих рецепторов, так и блокированием их специфическими антителами. Для STP механизмы, вероятно, связаны с ингибированием экспрессии генов провоспалительных факторов.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту

Все положения, выносимые на защиту, полностью обоснованы как собственными экспериментальными данными соискателя, так и данными, опубликованными в научной литературе.

Степень обоснованности научных выводов и рекомендаций

Поскольку научные выводы и рекомендации, содержащиеся в диссертации, основаны на полученных и известных из научной литературы экспериментальных результатах, а также на положениях, выносимых на защиту, то они также являются полностью обоснованными.

Теоретическая и практическая значимость результатов работы

Теоретическая значимость диссертации обусловлена, прежде всего, тем, что в работе впервые выявлено влияние STP на экспрессию генов GAPDH, TNF, IL1B, IL6, NFkB1, IL10, NRF2, BAX, BCL2 и влияние HTLP на экспрессию генов IL1B, IL6, IL10, IL12B, IL23, TNF, CD40, CD80, CD274, CSF1 в макрофагоподобных клетках THP-1

Установленные механизмы биологической активности HTLP и STP позволяют развивать более совершенные модели сигнальных систем, участвующих в формировании клеточного ответа на взаимодействие углеводных лигандов со специфическими рецепторами.

Полученные вещества применялись в создании ряда биологически активных добавок и биомедицинских средств. Разработанные методы позволили выделить полисахаридные комплексы из растительного сырья в количествах, достаточных для доклинических исследований и, в перспективе, масштабирования для широкого медицинского применения. Разработанные методы оценки биологической активности и определения физико-химических свойств могут быть использованы для создания методов контроля качества биотехнологических средств из растительного сырья. Созданные подходы повышают доступность важных для биомедицинской промышленности средств. На основании полученных данных были созданы и зарегистрированы три биологически активные добавки.

Новизна результатов, выводов и рекомендаций

Результаты исследований, представленные в диссертации, являются абсолютно новыми, так же как выводы и рекомендации, сделанные на их основе.

Замечания и вопросы по диссертации

При ознакомлении с текстом диссертационного исследования возникли некоторые замечания и вопросы:

1. Учитывая, что полисахариды – это сложные молекулы с вариабельной структурой, насколько детально проработана связь между конкретными структурными особенностями (тип гликозидных связей, наличие уроновых кислот, разветвленность цепи, содержание белка) и наблюдаемыми биологическими эффектами? Например, было ли показано, что именно β -(1→4) или β -(1→3) связи определяют противоопухолевую активность, или это лишь предположение, основанное на общих данных?
2. Представляется актуальным рассмотреть, имеются ли специфические структурные особенности HTLP или STP (например, наличие определенных зарядов, разветвленности, специфических моносахаридов), которые могли бы, теоретически, привести к взаимодействию с компонентами системы гемостаза, такими как фактор фон Виллебранда, тромбоцитарные рецепторы (GPIb/IX/V, GPIIb/IIIa), или даже с самими факторами свертывания (например, через полианионные свойства).
3. В свете иммуномодулирующей активности HTLP (активация NK-клеток, стимуляция TNF- α , IL-6) возникает вопрос о предпринятых попытках исследовать, может ли HTLP каким-либо образом влиять на активацию тромбоцитов или тромбоцитарный тромбоз.
4. Известна тесная связь между воспалением и свертыванием крови (например, через активацию эндотелия, выработку цитокинов, которые могут влиять на прокоагулянтную активность). Учитывая выраженную

противовоспалительную активность STP и HTLP, было бы целесообразно обсудить возможность того, что эта активность косвенно влияет и на гемостатический статус организма, снижая риск тромбообразования или, наоборот, влияя на другие аспекты гемостаза.

5. В тексте диссертации встречаются опечатки, мелкие грамматические ошибки и длинные предложения с множеством придаточных.

Однако данные замечания и вопросы несколько не умаляют значимости проведенного исследования и качества подготовленной диссертации. Они никак не снижают общую положительную оценку работы.

Диссертационная работа Генералова Евгения Александровича является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема установления биохимических механизмов биологической активности экстрагированных из клубненосных растений полисахаридных комплексов, имеющая важное значение для агропромышленного комплекса, фармацевтической и биотехнологической отрасли. Полученные препараты могут быть использованы и в качестве основы для создания биологически активных добавок, и в качестве активных компонентов новых лекарственных средств, что имеет существенное значение для системы здравоохранения России. Внедрение в производство нескольких биологически активных добавок, разработанных на основе исследований Е.А. Генералова, демонстрирует значительный вклад этих разработок в развитие отечественного биомедицинского комплекса и страны. Как официальный оппонент считаю, что диссертация Е.А. Генералова полностью отвечает критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова.

Заключение

Диссертация Генералова Евгения Александровича «Биохимические основы биомедицинского применения полисахаридов из клубненосных растений» отвечает требованиям, установленным Московским

государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.4. Биохимия (химические науки), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертация оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. В связи с этим соискатель Генералов Евгений Александрович заслуживает присуждения степени доктора химических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

доктор физико-математических наук,
профессор, член-корреспондент РАН,
директор ЦТП ФХФ РАН

« 7 » ноября 2025



ПАНТЕЛЕЕВ Михаил Александрович

Контактные данные:

Тел.: +7-9[REDACTED]54, e-mail: m[REDACTED]leev@[REDACTED]ex.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена докторская диссертация: 1.5.2 – Биофизика

Подпись Пантелеева Михаила Александровича удостоверяю:

Ученый секретарь

ЦТП ФХФ РАН



« 7 » ноября 2025

Овсебян Рузанна Арменовна