

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Глупова Виктора Вячеславовича, на диссертацию М.Ю. Пахаруковой «Структурно-функциональная организация системы метаболизма ксенобиотиков у возбудителя описторхоза *Opisthorchis felineus* (Rivolta, 1884)», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.01.03 – молекулярная биология

### Актуальность исследования

Диссертационная работа М.Ю. Пахаруковой посвящена решению задач фундаментальной проблемы молекулярной паразитологии и биохимии – исследованию структурно-функциональной организации метаболических систем, связанных с биотрансформацией и транспортом экзогенных и эндогенных субстратов у паразитических плоских червей. Система метаболизма и транспорта ксенобиотиков играет важную роль в регуляции взаимоотношений «паразит-хозяин», поддерживает гомеостаз организма гельминтов и обеспечивает защиту внутренней среды от лекарственных препаратов. Понимание структурно-функциональной организации и регуляции активности этой системы имеет большое значение для развития представлений о молекулярной биологии, биохимии и физиологии паразитических червей и механизмах лекарственной устойчивости гельминтов.

Основным объектом исследования была выбрана trematoda *Opisthorchis felineus* (Rivolta, 1884) (кошачья двуустка) — представитель семейства Opisthorchiidae, в которое также входят эпидемиологически значимые виды *O. viverrini* (Poirier, 1886) и *Clonorchis sinensis* (Looss, 1907). Печеночные сосальщики *O. felineus*, *O. viverrini*, *C. sinensis* - возбудители описторхоза/клонорхоза. Наиболее тяжелым осложнением инвазии этими гельминтами может быть холангiocарцинома – рак желчных протоков. *O. viverrini* и *C. sinensis* признаны Международным Агентством (IARC) по исследованию рака канцерогенами человека 1 класса опасности. Учитывая сходство развития и течение заболеваний, обусловленных инвазией *O. felineus*, *O. viverrini*, *C. sinensis*, а также близость

генетических характеристик этих trematod, можно предполагать, что *O. felineus* тоже обладает канцерогенными свойствами. В связи с вышесказанным, актуальность работы М.Ю. Пахаруковой не вызывает сомнений.

Для идентификации генов, кодирующих белки системы биотрансформации и транспорта ксенобиотиков, и исследования механизмов их регуляции, автор использовал комплексный подход, объединяющий биоинформационные, биохимические и молекулярно-биологические методы, что позволило детально оценить систему на нескольких уровнях организации.

При выполнении диссертационной работы был решен целый ряд задач, как фундаментального, так и прикладного характера. В частности, определена структурно-функциональная организация системы транспорта и метаболизма ксенобиотиков у представителей плоских паразитических червей. Показано, что белки этой системы выполняют жизненно-важные функции и, следовательно, являются перспективными молекулярными мишениями для разработки антigelминтных препаратов или средств, повышающих эффективность действия уже применяющихся антigelминтиков.

#### **Научная новизна и практическая значимость**

Важно отметить, что практический потенциал работы определяется возможностью применения ее результатов при создании новых лекарственных препаратов для лечения не только инвазии печеночных сосальщиков, но и других заболеваний человека и животных, вызванных trematodами. Кроме того, детекция описанных в работе паразит-специфических метаболитов в биологических жидкостях хозяина может быть использована для разработки малоинвазивных методов диагностики описторхоза.

#### **Общая характеристика диссертационной работы**

Диссертационная работа М.Ю. Пахаруковой построена по классической схеме. Она состоит из введения, обзора литературы, глав «материалы и методы», результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов и списка использованной литературы (158 источников), а также приложений. Диссертация изложена на 207 страницах машинописного текста, включает 8 таблиц и 47 рисунков, 3 приложения.

В главах обзора литературы обоснована актуальность исследования, приведены данные об эпидемиологии и канцерогенном потенциале кошачьей двуустки *O. felineus*. В целом, обзор выстроен таким образом, что заключение, представленное в конце этого раздела, о необходимости изучения функциональной геномики и исследований организации метаболических систем, связанных с биотрансформацией и транспортом экзогенных и эндогенных субстратов у паразитических червей выглядит всесторонне обоснованным и убедительным.

Глава «Материалы и методы» содержит описание большого перечня разнообразных методов исследований: от работы с животными, классической гистологии, до современных молекулярно-биологических и биохимических технологий. Нужно отметить, что автор удачно комбинирует различные методические подходы, что позволило получить взаимно дополняющие данные.

Глава «Результаты» хорошо иллюстрирована, все рисунки и таблицы понятны и полностью соответствуют полученным результатам. К важнейшим результатам следует отнести достаточно полное описание генов системы метаболизма и транспорта ксенобиотиков у trematod. Структура и функциональность компонентов этой системы у паразитических видов плоских червей ранее была неизвестна. Полученные автором результаты позволили сделать вывод о том, что биологическая роль этой системы ассоциирована с выделительной системой и, по-видимому, направлена на защиту и адаптацию паразитов. Интересно, что активность отдельных компонентов этой системы, в частности монооксигеназная активность цитохрома P450 играет существенную роль в выживаемости описторхид. Снижение выживаемости было убедительно продемонстрировано при таргетном подавлении экспрессии гена P450 и при подавлении активности кодируемого им белка.

Содержание автореферата соответствует материалам, представленным в диссертации, и полностью отражает суть проведенного исследования.

Результаты работы и сделанные на их основе выводы были подробно обсуждены на многочисленных международных научных конференциях и симпозиумах.

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов диссертации не вызывают сомнений.

Тем не менее к работе есть несколько замечаний:

1. К сожалению, отдельные белки АТФ-зависимого клеточного транспорта автором подробно не исследованы, за исключением единственного белка Р-гликопротеина 4, хотя автор утверждает, что Р-гликопротеин 1 также важен для взрослой стадии развития паразита. Работа бы выиграла, если больше Р-гликопротеинов было бы изучено.

2. В работе также отсутствует тестирование антигельминтной активности ингибиторов ABC-белков: тариквидара и верапамила, хотя автор делает заключение, что ABC-белки – это перспективные мишени для антигельминтных препаратов. Особенно интересно было бы исследовать их комбинаторное действие с празиквантелем.

### **Заключение**

Диссертационная работа Марии Юрьевны Пахаруковой представляет собой весомый вклад в изучение важных и сложных проблем молекулярной паразитологии и биохимии эпидемиологически значимых видов плоских паразитических червей семейства *Opisthorchiidae*. Работа имеет практическое значение, так как автору удалось выявить перспективные молекулярные мишени для разработки антигельминтных препаратов. Важно отметить, что в работе выявлены активные ингибиторы цитохрома P450 *O. felineus*, обладающие сильным антигельминтным действием. Эти соединения могут стать базисными для разработки новых эффективных препаратов против трематодозов.

Следует отметить высокий методический уровень проведенного исследования и логичность изложения полученных данных. Совокупность представленных экспериментальных данных и теоретических положений позволяет квалифицировать работу Марии Юрьевны Пахаруковой как крупное событие в области молекулярно-биологических исследований печеночных сосальщиков семейства *Opisthorchiidae*.

Пахарукова М.Ю представила материалы, изложенные в работе, на 12 международных конференциях, в 14 публикациях в ведущих научных журналах, относящихся к списку ВАКа, и 1 патенте.

Автор хорошо владеет современной литературой по тематике, четко сформулировал цель и задачи исследования, которые полностью решил.

По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов, представленная работа соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, критериям пунктов 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, с изменениями постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней», а ее автор, Мария Юрьевна Пахарукова, заслуживает искомой степени доктора биологических наук по специальности «03.01.03 – молекулярная биология».

Официальный оппонент: доктор биологических наук, профессор, директор Института систематики и экологии животных СО РАН Глупов Виктор Вячеславович, тел. (3832) 170973, +7 -9137357887

E-mail: skif@eco.nsc.ru

Адрес института: 630004, Новосибирск. Фрунзе 11

Домашний адрес: 630140, Новосибирск, Тюленина 20/1- кв.19

д.б.н., проф.

Глупов В.В.

