

ОТЗЫВ

официального оппонента на
диссертацию Пирожковой Дарьи Сергеевны
на тему «Структурно-функциональная организация генов
сапозин В-подобных белков у описторхид», представленную на соискание
ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.07 — генетика

Описторхозы – заболевания часто встречающиеся в Сибири и на Дальнем Востоке, возникают вследствие заражения гельминтами семейства *Opistorchiidae*. Последствием заражения гельминтами этого семейства являются заболевания печени, вплоть до фиброза, цирроза и, возможно, онкологических заболеваний печени. Для диагностики этих заболеваний используется либо прямой метод поиска яиц гельминтов в желчи, либо иммуноферментные методы, направленные на выявление антител к белкам гельминтов или их белков. Основным препаратом для лечения описторхозов является празиквантел – препарат из группы пиразинизохинолинов, который применяется для лечения описторхозов, начиная с 80-х годов прошлого века (всем известный Бильтрицид). Несмотря на довольно высокую эффективность этого препарата, он может приводить к ряду побочных реакций со стороны нервной и пищеварительной систем. Лечение празиквантелом зачастую тяжело переносится и требует подготовительного патогенетического лечения и десенсибилизирующей терапии после применения с использованием гепатопротекторов, гипосенсибилизирующих и желчегонных препаратов. Широкое распространение описторхозов, определенные сложности в точной идентификации видов гельминтов и необходимость улучшения терапии гельминтозов этого типа, делает актуальным исследование структурно-функциональной организации генов гельминтов этого семейства.

Целью диссертационной работы Пирожковой Д.С. был сравнительно-эволюционный анализ генов сапозин В подобных белков у паразитов

Целью диссертационной работы Пирожковой Д.С. был сравнительно-эволюционный анализ генов сапозин В подобных белков у паразитов семейства Opisthorchiidae и изучение их экспрессии. В обоснование этой цели автор приводит данные о том, что сапозин В подобные белки широко распространены у эукариот, обладают липид-связывающей активностью, мембранотропностью и могут участвовать в лизисе мембранных структур или их слиянии.

Материал диссертационного исследования изложен на 90 страницах, содержит 16 рисунков и 5 таблиц. Список литературы включает 102 российских и зарубежных источника. Текст диссертации состоит из стандартных разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Выводы», «Список литературы».

В разделе «Введение» сделана попытка описать актуальность работы, ее научную новизну и практическую значимость. В главе сформулирована цель работы и перечислены задачи, которые необходимо выполнить для ее достижения. Следует отметить, что логическое обоснование необходимости и актуальности исследования отсутствует, оно не научно обосновано, а изложено в декларативной форме. Например, утверждается, что «точный механизм действия празиквантела неизвестен» (хотя в главе «Результаты и обсуждение» механизм действия все-таки описывается) и поэтому существует потребность в «совершенствовании лечения описторхоза». На самом деле два этих факта не имеют причинно-следственной связи. Очевидно, что в этой связи важен не механизм, а эффективность или побочные эффекты. В разделе не хватает логических связок, непонятно, почему для исследования выбран именно белок сапозин В. Раздел написан небрежно, информация о доменной структуре, процессинге, белках других эукариот и т.д. не добавляет понимания причин, по которым авторы исследуют белки именно этого семейства. Совершенно неожиданно возникает декларативный абзац про массовое параллельное секвенирование.

При этом очевидно, что автор планирует использовать данные NGS, так про это можно было прямо и написать, предметно перечислив, какие данные есть и как их можно использовать для достижения поставленной цели.

После формулировки цели сформулированы 4 задачи, однако положения, выносимые на защиту, не соответствуют задачам. Одна из задач, а именно исследование действия празиквантела (которая представлена главах «Материалы и Методы» и «Результаты и обсуждения» и по которой представлен вывод) вообще не упоминается в положениях, выносимых на защиту. Так же небрежно написан и раздел о теоретической и практической значимости. Непонятно, где в диссертации идет речь о «приспособительном значении структурных вариаций», или «выяснении роли белков в паразитизме» и т.д. При этом практическая значимость очевидна и заключается в уточнении старых данных, в выявлении нового транскрипта, который может быть специфичным и использоваться для идентификации гельминтов, а теоретическая – в новых данных, полученных в результате анализа данных секвенирования и экспрессии.

В «Обзоре литературы» приведены общие сведения о паразитах семейства *Opisthorchiidae*, способных инфицировать человека. Отдельно рассмотрены некоторые аспекты физиологии трематод, имеющие прямую связь с взаимодействием паразита с хозяином: структура и функции тегумента и состав экскреторно-секреторного продукта. В главе, посвященной сапозин В-подобным белкам, описан домен сапозин В и его функции в различных сапозин-подобных белках, а также приведены существующие данные о сапозин В-подобных белках трематод.

Непонятно зачем в этой главе описывать жизненный цикл описторхид (это уже множество раз сделано и не является объектом исследования), непонятно, почему в этой главе ни слова не сказано о генах исследуемых белков, особенностях их строения и экспрессии т.е. о том, чему посвящена

эта работа. К слову сказать, эта информация есть в главе «Результаты и обсуждение».

Отдельная глава посвящена противогельминтному препарату празиквантелу, в частности, механизму его действия и существующим примерам снижения чувствительности паразитов к празиквантелу и другим противопаразитарным препаратам.

В целом обзор литературы содержит сведения о теме исследования, однако наличие информации о генетических аспектах исследуемой темы могло бы существенно упростить понимание работы.

Раздел «Материалы и Методы» в целом описывает методы, используемые в работе. В разделе много небрежности в оформлении (символы в формулах, перечень расходных материалов, изложение методик, и т.д.).

Раздел «Результаты и обсуждение» начинается с биоинформатического поиска транскриптов, кодирующих сапозин В-подобные белки в транскриптомах *O. felineus*, *C. sinensis* и *O. viverrini* и *M. orientalis*. Анализ полученных результатов и сравнение их с данными литературы позволили автору предсказать транскрипт сапозин В-подобного белка, который отсутствовал в опубликованном транскриптом *O. felineus*, его существование было экспериментально подтверждено, и была получена его нуклеотидная последовательность. Однако эти данные не представлены в работе. Учитывая тот факт, что собственные данные представлены на 6 рисунках и в одной таблице данные секвенирования и их анализ тоже можно было бы представить.

Анализ экзон-интроной структуры генов сапозин В-подобных белков описторхид выявил три группы транскриптов, содержащие по одному транскрипту от каждого вида. Филогенетический анализ показал, что увеличение количества паралогичных генов сапозин В-подобных белков происходил независимо в разных отрядах трематод.

Основные экспериментальные данные, полученные в работе относятся к экспрессии генов сапозин В-подобных белков на разных стадиях жизненного цикла, и к изменению их экспрессии у *O. felineus* под действием празиквантела *in vitro* и *in vivo*. Данные по дифференциальной экспрессии исследуемых генов на разных стадиях жизненного цикла *O. felineus* были сравнены с доступными данными по экспрессии соответствующих генов у других описторхид, что позволило выявить стадиоспецифичность экспрессии разных групп ортологов. Сравнение данных по празиквантел-индуцированному изменению экспрессии генов сапозин В-подобных белков *in vitro* и *in vivo* позволило автору предложить гипотезы о функциях сапозин В-подобных белков у *O. felineus*.

В главе «Выводы», представлено 5 выводов (их количество не соответствует количеству задач (4) и положениям, выносимым на защиту (3). В целом выводы, сделанные по результатам работы, соответствуют полученным данным, и данные, на основании которых сделаны выводы, опубликованы.

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с общепринятыми требованиями и отражает содержание работы.

Кроме вышеупомянутых замечаний в тексте присутствуют опечатки, ошибки. Например, сокращение SAP вводится на менее 3-х раз, при этом в диссертации есть раздел «Список сокращений», в котором все сокращения приведены.

При прочтении диссертации возникло несколько замечаний/вопросов:

1. В филогенетическом анализе использованы только части белка, соответствующие домену сапозин В. Почему не рассмотрены внедоменные участки?
2. Почему в работе не исследованы регуляторные области исследуемых генов – промоторная область и 3'-нетранслируемая область.

Диссертационная работа Д.С. Пирожковой в целом соответствует паспорту специальности 03.02.07 – генетика. Диссертация «Структурно-функциональная организация генов сапозин В-подобных белков у описторхид», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, обладающей научной новизной, теоретической значимостью, и, возможно, имеет перспективы практического использования полученных результатов.

Работа в целом соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 01.10.2018, с изм. от 26.05.2020) "О порядке присуждения ученых степеней" (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 г. N 723; от 21.04.2016 г. N 335; от 02.08.2016 г. N 748; от 29.05.2017 г. N 650; от 28.08.2017 г. N 1024; от 01.10.2018 г. N 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Дарья Сергеевна Пирожкова – может претендовать на присуждение ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Заведующий лабораторией
молекулярной медицины
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Институт химической биологии
и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской
академии наук (ИХБФМ СО РАН),
кандидат биологических наук,
Зав лаборатории молекулярной
медицины, г.н.с.


Лактионов Павел Петрович

630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8
тел. (383) 363-51-43 lakt@niboch.nsc.ru



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук
Подпись *Лактионов Павел Петрович*
Зав. канцелярией *Масленникова А.М.*
07.06.2022