

Отзыв

официального оппонента на диссертацию

Запаринной Оксаны Геннадьевны

«Роль окислительного стресса в развитии неоплазии холангиоцитов на экспериментальной модели описторхоза», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. - клеточная биология

Актуальность темы исследования

Основной очаг описторхоза, вызванного кошачьей двуусткой *Opisthorchis felineus* и трематодой семейства *Opisthorchiidae*, находится на территории Западной Сибири, в бассейне реки Обь, где по разным оценкам заражено до 60 % населения сельских районов. При этом количество случаев заражения описторхозом в России составляет 78,5% от общего числа заражения всеми биогельминтозами. Описторхоз сопровождается формированием очагов хронического воспаления в печени, фиброзом и неоплазией 3-й степени клеток эпителия желчных протоков. Неоплазия является преканцерогенным изменением и может привести к злокачественной трансформации клеток. Родственные виды семейства *Opisthorchiidae*, *O. viverrini* и *C. sinensis*, признаны биологическими канцерогенами и основными факторами развития рака эпителия желчных протоков в эндемичных регионах Юго-Восточной Азии. В настоящее время не до конца изучены молекулярные механизмы, ведущие к развитию неоплазии эпителия желчных протоков при инфицировании печеночными сосальщиками также неизвестны. Целью данной работы являлся поиск клеточных путей в развитии неоплазии и выявление маркеров окислительного стресса при экспериментальном описторхозе на модели сирийских хомячков *M. auratus*. Для достижения поставленной цели автору необходимо было решить следующие задачи: (1) оценить накопление окислительных повреждений ДНК и липидов, а также морфологические изменения в печени (неоплазия эпителия желчных протоков, перидуктальный фиброз, воспалительный инфильтрат) и в организме экспериментальных животных в динамике инфекции описторхоза (от 1 до 18 месяцев); (2) выявить дифференциально экспрессирующиеся гены в печени инфицированных *O. felineus* хомячков через 1 и 3 месяца инфекции с помощью анализа транскриптома печени; (3) провести функциональный анализ дифференциально экспрессирующихся генов в печени инфицированных *O. felineus* животных через 1 и 3 месяца инфекции и подтвердить активацию наиболее представленных клеточных путей с помощью иммуногистохимии и Вестерн-блот анализа; (4) исследовать

влияние антиоксидантов разного механизма действия (Ресвератрол и SkQ1) на экспрессию генов TNF, iNOS, ALOX5, CK7, TGF β , ACTA2, на структуру гепатобилиарной системы золотистых хомячков на фоне экспериментального описторхоза через 1 и 3 месяца диеты с антиоксидантами.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования

Автором диссертации впервые была изучена роль окислительного стресса в развитии воспаления, неоплазии холангиоцитов и общего структурно-функционального состояния печени при описторхозе, вызванном *O. felineus*. Впервые показана взаимосвязь между маркерами окислительного стресса в тканях печени и выраженностью неоплазии холангиоцитов у сирийских хомячков при инфекции *O. felineus*. Впервые изучены изменения транскриптома в печени инфицированных *O. felineus* хомячков через 1 и 3 месяца инфекции. Впервые показано, что антиоксиданты ресвератрол и SkQ1, снижают уровень неоплазии эпителия желчных протоков, а также уровень маркеров перекисного окисления липидов у инфицированных *O. felineus* хомячков.

Несомненно, работа имеет как теоретическую, так и практическую значимость. Результат данной работы расширяет представления о молекулярных механизмах взаимоотношений в системе “паразит-хозяин” при описторхозе, вызванном *O. felineus*, в том числе в области изучения молекулярных механизмов возникновения канцерогенеза при инфицировании паразитическими организмами, являющимися биологическими канцерогенами. В ходе исследования, также, был установлен гепатопротекторный эффект антиоксидантов, следовательно, эти соединения могут быть использованы в комплексной терапии с празиквантелом при лечении описторхоза.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Запариной О.Г. соответствует требованиям к оформлению кандидатской диссертации и содержит все необходимые разделы: оглавление, список сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список литературы. Работа изложена на 118 страницах, включает 19 рисунка и 6 таблиц. Список литературы включает 169 источников.

В разделе «Введение» автор кратко формулирует актуальность, цель и задачи проводимого исследования, а также его научную новизну и практическую значимость.

В разделе «Обзор литературы» автор описывает жизненный цикл описторхид, а также эпидемиологию описторхоза. Выделяет в отдельный

подраздел влияние окислительного стресса на патогенез заболевания, как на уровне организма, так и на молекулярном уровне. Далее автор описывает природные и синтетические низкомолекулярные антиоксиданты, подробно излагает состояние научной проблемы, дает заключение в конце данной главы, предлагая пути решения.

Глава «Материалы и Методы» содержит описание современных молекулярно-биологических, биохимических, генетических, культуральных методов, а также методов экспериментальной работы с лабораторными животными. Данная глава написана достаточно подробно, чтобы можно было воспроизвести поставленные эксперименты.

В главе «Результаты» Запариной О.Г. проанализирована динамика структурных изменений в печени животных в зависимости от срока инвазии описторхоза, приведен анализ транскриптомов печени экспериментальных животных; показано влияние антиоксидантов на структурное и функциональное состояние печени при описторхозе. Определены биохимические показатели сыворотки крови животных, получавших антиоксиданты, а также показан комбинаторный эффект антиоксидантов при совместном применении с празиквантелом.

В главе «Обсуждение» подробно и критически проанализированы собственные, оригинальные результаты исследования, сравнены со схожими, имеющимися в литературе.

Анализ основных положений диссертационного исследования позволяет сделать вывод, что диссертация является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным на высоком научном уровне. Основные положения диссертационной работы опубликованы в журналах из перечня ВАК (5 статей), а также неоднократно докладывались на российских и международных конференциях (всего 6).

Выводы, сделанные в работе, отражают полученные результаты.

Общая характеристика работы

В целом диссертация Запариной О.Г. оценивается положительно, однако имеются следующие замечания:

1. Визуализация описываемых объектов и процессов, несомненно, улучшила бы главу «Обзор литературы», например, здесь напрашивается несколько рисунков, посвященных жизненному циклу описторхид, географическому распространению заболевания, молекулярной регуляции патогенеза.
2. В главе «Результаты» присутствуют следующие недочеты:
 - 2.1. Рисунки следует приводить непосредственно рядом с описанием их в тексте.

2.2. На рисунке 4.А из – за низкого разрешения не понятно, сколько было точек в каждом кластере при анализе главных компонент. На рисунке 4.Б приведены наиболее обогащенные пути KEGG среди ДЭГ, наиболее статистически достоверный – это «расщепление и абсорбция белка». Хотелось бы увидеть описание и обсуждение этого факта в тексте. На рисунке 4.В изображена диаграмма Эйлера – Венна, а не просто Эйлера.

2.3. В подразделе 3.3.3 (рис. 13), на иммуноблотах не видно снижения уровня TNF-а при применении ресвератрола, а также снижения α -SMA при использовании SkQ1, а ведь эти результаты пойдут в подтверждение вывода №4.

2.4. Подраздел 3.3.4, не совсем понятно, почему не выполнен эксперимент по исследованию уровня белков NRF2 и NQO1 в клетках HepG2 и тканях печени после обработки антиоксидантом ресвератролом.

2.5. В таблице 3 указаны уровни достоверности p -value <0.05 для групп «антиоксиданты» и «инфицированная группа» – хотя значения АЛТ имеют сильный разброс для обеих групп.

2.6. В таблице 4 представлен морфометрический анализ гистологических препаратов печени животных, пролеченных празиквантелом, интересным, но, к сожалению, не обсужденным в тексте, кажется увеличение дистрофии паренхимы животных, инфицированных и пролеченных празиквантелом, по сравнению с группами животных просто инфицированных или здоровых и принимающих празиквантел.

3. Главу «Обсуждение» было бы лучше объединить с главой «Результаты».

4. Автору следовало бы представить финальную схему клеточных/сигнальных путей в развитии неоплазии с обозначением маркеров окислительного стресса в виде рисунка.

5. Вывод №3 больше похож на описание результатов, нежели на умозаключение.

Заключение

Несмотря на высказанные замечания редакторского характера, диссертация Запариной Оксаны Геннадьевны является полноценной, законченной научно-квалификационной работой, посвященной важной проблеме - определению клеточных путей в развитии неоплазии и выявлению маркеров окислительного стресса при экспериментальном описторхозе. Таким образом, диссертация Запариной Оксаны Геннадьевны полностью соответствует требованиям пп. 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (с изменениями в ред. Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016, №748 от

ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (с изменениями в ред. Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016, №650 от 29.05.2017, №1024 от 28.08.2017, №1168 от 01.01.2018, №426 от 20.03.2021), предъявляемым к кандидатским и докторским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – «Клеточная биология».

Дымова Майя Александровна,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
лаборатории биотехнологии
Института химической биологии
и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской
академии наук (ИХБФМ СО РАН)
Почтовый адрес: 630090, г. Новосибирск,
просп. акад. Лаврентьева, д 8
Телефон: +7 (383) 363-51-50
Электронная почта: dymova@niboch.nsc.ru

 | Дымова М.А. |

Дата « 02 » 02 2023 г.

