

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.239.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И
ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ
НАУК», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 22 марта 2023 г. №10

О присуждении Запариной Оксане Геннадьевне
(гражданка Республики Казахстан)
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Запариной О.Г. «Роль окислительного стресса в развитии неоплазии холангиоцитов на экспериментальной модели описторхоза» по специальности 1.5.22. – клеточная биология (биологические науки) принята к защите 12.12.2022 г, протокол №34, диссертационным советом 24.1.239.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (ИЦиГ СО РАН) (630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет 24.1.239.01 (Д 003.011.01) утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Запарина Оксана Геннадьевна, 9 декабря 1993 года рождения. В 2017 году Запарина Оксана Геннадьевна окончила Казахский национальный университет им. аль-Фараби по специальности «биология». В

2021 г. окончила очную аспирантуру ИЦиГ СО РАН. В период подготовки диссертации Запарина Оксана Геннадьевна работала в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» в должности младшего научного сотрудника в лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов ИЦиГ СО РАН.

Диссертационная работа выполнена в лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения российской академии наук», г. Новосибирск.

Научный руководитель – доктор биологических наук Пахарукова Мария Юрьевна, работает в должности ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Официальные оппоненты:

1. **Кутырев Иван Александрович**, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН» г. Улан-Удэ.
2. **Дымова Майя Александровна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», г. Новосибирск.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово. В своем

положительном отзыве, подписанном ведущим научным сотрудником отдела молекулярной вирусологии и флавовирусов и вирусных гепатитов заведующей лабораторией, д.б.н. Кочневой Галиной Вадимовной и утвержденном Генеральным директором ФБУН ГНЦВБ «Вектор» д.б.н. Максютковым Ринатом Амировичем, указала что «Диссертационная работа Запариной Оксаны Геннадьевны «Роль окислительного стресса в развитии неоплазии холангиоцитов на экспериментальной модели описторхоза» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на современном методическом и теоретическом уровнях. Опубликованные научные труды, исчерпывающие отражают содержание диссертационной работы. Несомненно, диссертационная работа по научной новизне, актуальности, теоретической значимости и другим параметрам соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, представляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Запарина Оксана Геннадьевна, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности по специальности 1.5.22. - Клеточная биология.

Отзыв заслушан и утвержден на Научном семинаре отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов Федерального Бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека» (протокол № 61 от 21.02.2023 г.)»

Соискатель имеет 22 опубликованных работы, из них по теме диссертации 12, общим объемом 63 страницы, из них 5 статей в рецензируемых научных изданиях (Wos, Scopus) и 7 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций. Во всех опубликованных работах личный вклад автора был определяющий. В диссертации

отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

- 1) **Zaparina O.G.**, Rakhmetova A.S., Kolosova N.G., Cheng G., Mordvinov V.A., Pakharukova M.Y. Antioxidants resveratrol and SkQ1 attenuate praziquantel adverse effects on liver damage in *Opisthorchis felinus* infected hamsters // Acta Tropica – 2021.-Vol.220. doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105954. (IF 3.1)_Q1
- 2) Pakharukova Mariya Y. **Zaparina Oxana G.**, Kapushchak Yaroslav K., Baginskaya Nina V., Mordvinov Viatcheslav A. *Opisthorchis felinus* infection provokes timedependent accumulation of oxidative hepatobiliary lesions in the injured hamster liver // PLoS ONE.-2019.-№14(5).P.1-14. (IF-3.4)_Q1.
- 3) Pakharukova M.Y., **Zaparina O.G.**, Kovner A.V., Mordvinov V.A. Inhibition of *Opisthorchis felinus* glutathione-dependent prostaglandin synthase by resveratrol correlates with attenuation of cholangiocyte neoplasia in a hamster model of opisthorchiasis // International Journal of Parasitoljgy.-2019.- Vol.49 N12 P. 963-973. (IF 2.8)_Q1
- 4) Mordvinov V.A., Ershov N.I., **Zaparina O.G.**, Pakharukova M.Y. Genomics and proteomics of the liver fluke *Opisthorchis felinus*. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2020. DOI 10.18699/VJ2044-o. (IF-0.1)
- 5) Pakharukova M.Y., **Zaparina O.**, Baginskaya N.V., Mordvinov V.A. Global changes in gene expression related to *Opisthorchis felinus* liver fluke infection reveal temporal heterogeneity of a mammalian host response. Food Waterborne Parasitol. 2022 Apr 27;27:e00159. doi: 10.1016/j.fawpar.2022.e00159. (IF 6,15) _Q1.

На диссертацию и автореферат поступило 7 положительных отзывов.

Отзывы прислали:

- 1) Зенкова М.А. – член-корреспондент РАН, д.б.н. профессор, заведующая лабораторией биохимии нуклеиновых кислот ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН» г. Новосибирск.
- 2) Свинин А.О. – к.б.н., старший научный сотрудник Лаборатории экологической генетики и метагеномики, Института экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО), ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет», г. Тюмень.
- 3) Вавилин В.А. - член-корреспондент РАН, д.м.н. профессор, директор НИИ Молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «ФИЦ Фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск.
- 4) Одоевская И.М. – к.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией иммунологии и молекулярных исследований ВНИИП – филиал ФГБНУ ФИЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной Ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН», г. Москва.
- 5) Толстикова Т.Г. – д.б.н., профессор, заведующая лабораторией фармакологических исследований ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН», г. Новосибирск.
- 6) Беспрозванных В.В. – д.б.н., заведующий лабораторией паразитологии ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия и наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН», г. Владивосток.
- 7) Леберфарб Е.Ю. – к.м.н., доцент кафедры медицинской химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Новосибирск.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оба оппонента являются компетентными специалистами в области клеточной и молекулярной биологии, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из

ведущих учреждений в области клеточной биологии, генной инженерии, молекулярной биологии и биотехнологии, что позволяет произвести экспертную оценку полученных в диссертационной работе результатов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказано, что развитие неоплазии эпителия желчных протоков при инфекции, вызванной кошачьей двуусткой *Opisthorchis felineus*, сопровождается накоплением цитотоксичных продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида и 4-гидрокси-2-ноненаля) в печени сирийских хомячков *Mesocricetus auratus*.

Доказано, что в клетках печени сирийских хомячков, инфицированных *O. felineus*, происходит увеличение уровня мРНК генов *Cdh1/2*, *Colla1*, *Mmp9*, *Vim* и соответствующих белков – маркеров активации эпителиально-мезенхимального перехода, которое предшествует развитию неоплазии холангиоцитов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые выявлена линейная связь между длительностью инфекции, вызванной *O. felineus*, степенью структурных изменений в печени инфицированных животных и накоплением малонового диальдегида и 4-гидрокси-2-ноненаля – маркеров окислительного стресса, доказывающая роль окислительных повреждений печени в развитии неоплазии эпителия желчных протоков.

Проведен анализ транскриптома печени при экспериментальном описторхозе и выявлены гены дифференциально-экспрессирующиеся в печени сирийских хомячков, инфицированных *O. felineus*, которые могут быть вовлечены в предраковые изменения эпителия желчных протоков.

Показано, что при остром и хроническом описторхозе в печени экспериментальных животных наблюдаются изменения в активности более двух тысяч генов, участвующих в регуляции клеточного цикла, эпителиально-мезенхимального перехода, программируемый клеточной гибели (апоптоза),

сигнального пути P53, сигнального пути TGF- β , в развитии воспаления и фиброгенеза.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что представлены доказательства снижения степени развития неоплазии эпителия желчных протоков и воспаления в печени животных при инфекции, вызванной *O. felinus*, а также степени повреждений гепатоцитов, вызванных применением празиквантела – основного антигельминтного препарата, под действием антиоксидантов ресвератрола и SkQ1, что делает эти соединения перспективными для дальнейших исследований и применения в терапии гельминтозов.

Данные анализа массового параллельного секвенирования транскриптома печени хомячков, инфицированных *O. felinus*, доступны в международной базе NCBI BioProject (PRJNA789062) и могут быть использованы заинтересованными исследователями.

Результаты диссертационной работы представляют интерес для научно-исследовательских организаций, изучающих механизмы канцерогенеза, вызванного инфекционными агентами и механизмы взаимоотношений в системе «паразит-хозяин» на клеточном уровне, а также могут быть использованы при решении практических задач, связанных с поиском новых методов профилактики и лечения описторхоза. Результаты работы могут быть использованы в образовательном процессе на биологических факультетах высших учебных заведений при чтении лекций по клеточной и молекулярной биологии, гистологии.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий набор цитологических, молекулярно-генетических и гистологических методов, включая, выделение РНК, подготовку ДНК-библиотек для массового параллельного секвенирования и последующий биоинформатический анализ данных, полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени, Вестерн блот-анализ, иммуноферментный анализ,

иммуногистохимическое окрашивание, комплексный гистологический анализ оценки структурного состояния печени, а также методы статистического анализа данных. Используемые методы позволили получить новые данные о развитии предраковых изменений эпителия желчных протоков, ассоциированные с экспериментальной инфекцией, вызванной трематодой *O. felineus*.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность, которая подтверждается использованием широкого набора дополняющих друг друга независимых методов – клеточных, молекулярных, гистологических, биохимических, биоинформатических и статистических. Так, накопление маркеров окислительных повреждений подтверждено с помощью иммуногистохимического и иммуноферментного анализов; структурные и функциональные изменения в печени инфицированных животных – биохимическим и гистологическим анализом с использованием нескольких типов окрашивания; изменения экспрессии генов маркеров воспаления, фиброгенеза и эпителиально-мезенхимального перехода подтверждены на уровне мРНК и белка с помощью ПЦР в режиме реального времени, Вестерн-блот анализа и иммуногистохимии.

При интерпретации результатов работы, касающихся основных механизмов развития неоплазии эпителия при описторхозе и вовлеченности окислительного стресса в этот процесс, были учтены данные, полученные другими исследователями по рассматриваемой тематике. Результаты работы получены на сертифицированном оборудовании, статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в планировании и проведении большинства экспериментов, обработке и интерпретации экспериментальных данных, апробации результатов исследования и подготовке публикаций. Основные результаты исследования получены автором самостоятельно.

Гистологические и иммуногистохимические исследования выполнены совместно с к.б.н. А.В. Ковнер, Н.В. Багинской, А.Ш. Рахметовой; подготовка ДНК-библиотек – совместно с к.б.н. Н.П. Бондарь, тест на антипаразитарную активность *in vitro* – с к.б.н. Д.В. Пономарёвым (ФИЦ ИЦиГ СО РАН).

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 10 «Изучение закономерностей цито- и гистогенеза, клеточной дифференцировки, физиологической и репаративной регенерации тканей, а также, регуляции этих процессов», п. 13 «Изучение молекулярных, иммунологических, цитохимических и физиологических аспектов жизненного цикла клеток при экспериментальных (в том числе повреждающих) воздействиях. Изучение пролиферации клеток, старения и клеточной гибели», п. 16 «Особенности биологии трансформированных клеток. Механизмы трансформации», п. 18 «Энергетика клетки, регуляция редокс-статуса клетки. Молекулярные, иммунологические и физиологические аспекты изучения клеток многоклеточных и одноклеточных организмов в норме и патологии» специальности 1.5.22. – клеточная биология (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям пункта 9, абзац 2 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Запарина О.Г. аргументировано ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

Диссертационный совет 22 марта 2023 г. принял решение присудить Запариной О.Г. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, связанной с комплексным анализом клеточных механизмов и путей, вовлеченных в развитие неоплазии эпителия желчных протоков при экспериментальном описторхозе и оценкой роли окислительного стресса в этом процессе.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.22. – клеточная биология, участвовавших в заседании, из 27 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за – 21, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам. председателя

диссертационного совета,
Академик РАН, д.б.н.



А.В. Кочетов

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

22.03.2023 г