

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.020.01 на базе  
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И  
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ  
В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ  
ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 17.03.2017 № 2

О присуждении Пахаруковой Марии Юрьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Структурно-функциональная организация системы метаболизма ксенобиотиков у возбудителя описторхоза *Opisthorchis felineus* (Rivolta, 1884)», по специальности 03.01.03 - молекулярная биология принята к защите 02.12.2016 г., протокол № 7 диссертационным советом Д 208.020.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 630559, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Кольцово, АБК, корпус 12, приказ Минобрнауки России от 07.12.2007 г. № 2397-1739, изменения от 20.11.2009 г. № 2136-877/1739, от 02.04.2010 г. № 766-302/1739, от 18.06.2010 г. № 1777-640/1739, от 16.07.2010 г. № 1777-837/1739, от 20.05.2011 г. № 1110-561/1739, от 18.11.2013 г. № 813, от 09.06.2014 № 310/нк, от 15.03.2016 № 326/нк, 18.11.2016 №1478/нк.

Соискатель – Пахарукова Мария Юрьевна, 1977 года рождения. В 1999 г. окончила Новосибирский государственный университет по квалификации «биолог», по специальности «молекулярная биология». Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Изучение роли транскрипционных факторов HNF3 и рецепторов ксенобиотиков в механизме ви-

довой специфичности действия гепатоканцерогенных аминоазокрасителей» защитила в 2008 году в диссертационном совете, созданном на базе Института цитологии и генетики Сибирского Отделения Российской Академии Наук. Работает старшим научным сотрудником лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении (ФГБНУ) «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН).

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов в ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН».

Научный консультант – доктор биологических наук Мордвинов Вячеслав Алексеевич, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», лаборатория молекулярных механизмов патологических процессов, заведующий лабораторией.

Официальные оппоненты:

Лисица Андрей Валерьевич, доктор биологических наук, академик РАН, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», директор.

Ильичёва Татьяна Николаевна, доктор биологических наук, доцент, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория серодиагностики гриппа, заведующая;

Глунов Виктор Вячеславович, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт систематики и экологии животных Сибирского Отделения Российской Академии Наук», директор,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского Отделения Российской Академии Наук», г. Новосибирск, в своем положительном заключении, подписанном Невинским Георгием Александровичем, доктором химических наук, заведующим лабораторией ферментов репарации, и утвержденном Власовым Валентином Викторовичем, доктором химических наук, академиком РАН, директором, указала, что диссертация Пахаруковой М.Ю., представляет собой научно-квалификационный труд, который можно квалифицировать как самостоятельное научное направление в молекулярной биологии: функциональная геномика. Опубликованные научные статьи полностью соответствуют теме диссертации. По своей актуальности, научной новизне, объему исследований и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов данный труд соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, заслуживает искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Соискатель имеет 46 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 20 работ, из них опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 13 работ, из них в зарубежных научных изданиях – 9 статей; в материалах российских и международных научных форумах – 6 публикаций; 1 патент. Авторский вклад был определяющим, общий объем публикаций по теме диссертации – 113 страниц.

Основные статьи по теме диссертации:

1. Cytochrome P450 in fluke *Opisthorchis felineus*: Identification and characterization / M.Y. Pakharukova, N.I. Ershov, E.V. Vorontsova, A.V. Katokhin, T.I. Merkulova, V.A. Mordvinov // Molecular and Biochemical Parasitology. – 2012. – V. 181. – P. 190–194.
2. Identification of thyroid hormone receptor homologs in the fluke *Opisthorchis felineus* (Platyhelminthes) / M.Y. Pakharukova, N.I. Ershov, E.V. Vorontsova,

- A.G. Shilov, T.I. Merkulova, V.A. Mordvinov // Molecular and Biochemical Parasitology. – 2014. – V. 194. – P. 64–68.
3. The first comprehensive study of praziquantel effects in vivo and in vitro on European liver fluke *Opisthorchis felinus* (Trematoda) / M.Y. Pakharukova, A.G. Shilov, D.S. Pirozhkova, A.V. Katokhin, V.A. Mordvinov // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2015. – V. 46. – I. 1. – P. 94–100.
4. Opisthorchiasis: An Overlooked Danger / L.M. Ogorodova, O.S. Fedorova, B. Sripa, V.A. Mordvinov, A.V. Katokhin, J. Keiser, P. Odermatt, P.J. Brindley, O.A. Mayboroda, T.P. Velavan, M.B. Freidin, A.E. Sazonov, I.V. Saltykova, M.Y. Pakharukova, Y.V. Kovshirina, K. Kaloulis, O.Y. Krylova, M. Yazdanbakhsh, the TOPIC Consortium // PLOS Neglected Tropical Diseases. - 2015. –V. 9. – I. 4: e0003563.
5. Effect of *Opisthorchis felinus* infection and dimethylnitrosamine administration on the induction of cholangiocarcinoma in Syrian hamsters / G.A. Maksimova, M.Y. Pakharukova, E.V. Kashina, N.A. Zhukova, A.V. Kovner, M.N. Lvova, A.V. Katokhin, T.G. Tolstikova, B. Sripa, V.A. Mordvinov // Parasitology International. – 2015. – pii: S1383-5769(15)00166-X. doi: 10.1016/j.parint.2015.10.002.
6. Functional analysis of the unique cytochrome P450 of the liver fluke *Opisthorchis felinus* / M.Y. Pakharukova, V.A. Vavilin, B. Sripa, T. Laha, P.J. Brindley, V.A. Mordvinov // PLOS Neglected Tropical Diseases. – 2015. – V. 9. – I. 12 – e0004258.
7. The liver fluke *Opisthorchis felinus*: biology, epidemiology, and carcinogenic potential / M.Y. Pakharukova and V.A. Mordvinov // Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. – 2016. – V. 110. - P. 28–36.
8. The morphofunctional and biochemical characteristics of opisthorchiasis-associated cholangiocarcinoma in a Syrian hamster model / G.A. Maksimova, M.Y. Pakharukova, E.V. Kashina, N.A. Zhukova, M.N. Lvova, M.V. Khvostov, D.S. Baev, A.V. Katokhin, T.G. Tolstikova, V.A. Mordvinov // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2016. – V. 6. – I. 4. – P. 454–462.

На автореферат диссертации поступили 8 отзывов: от Кутырева И.А., кандидата биологических наук ФГБУН Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ) – отзыв полностью положительный; от Меркуловой Т.И., доктора биологических наук, заведующей лабораторией регуляции экспрессии генов и лабораторией эпигенетики стресса ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (г. Новосибирск) – отзыв полностью положительный; от Демакова С.А., доктора биологических наук, заведующего лабораторией хромосомной инженерии Института Молекулярной и клеточной биологии СО РАН – отзыв положительный, но содержит небольшое техническое замечание о наличии англоязычной маркировки на рисунке 15; от Усынина И.Ф., доктора биологических наук, врио директора ФГБНУ НИИ биохимии, заведующего лабораторией механизмов межклеточных взаимодействий – отзыв полностью положительный; от Пельгунова А.Н., доктора биологических наук, директора ФГБУН Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (Москва) – отзыв полностью положительный; от Павлюшина В. А., доктора биологических наук, профессора, академика РАН, директора ФГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (Санкт-Петербург, Пушкин) – отзыв полностью положительный; от Пышного Д.В., член-корреспондента РАН, заместителя директора по научной работе ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН» – отзыв положительный, но содержит замечание «При анализе текста автореферата осталось не ясно, с помощью какого метода удалось установить точную структуру молекул, содержащих несколько хиральных центров, т.е. имеющих строго определенную пространственную организацию?»; от Щербакова Д.Ю., доктора биологических наук, заведующего лабораторией гено систематики Лимнологического института СО РАН (Иркутск) – отзыв положительный, но содержит техническое замечание «Поскольку R является языком программирования, то, использованные автором ‘drc 3.0-1’ и ‘mortality’ следует называть не пакетами программ, а библиотеками команд».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в молекулярной биологии, большим количеством публикаций в этом направлении, высоким профессионализмом и согласием на оппонирование.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная идея о том, что паразитические черви *Opisthorchiidae* обладают функционально-активной системой метаболизма и транспорта ксенобиотиков, белки этой системы важны для выживаемости описторхид и являются важными молекулярными мишенями;

предложены оригинальные методы тестирования функциональной активности ключевых белков этой системы – монооксигеназ и АТФ-зависимых белков транспортеров, расширяющие возможности оценки функциональной активности ферментов в тканях гельминтов;

доказана перспективность исследований белков цитохромов Р450 и АТФ-зависимых белков транспортеров описторхид в качестве молекулярных мишеней для разработки антигельминтных препаратов;

введены новые представления о составе системы биотрансформации соединений у плоских паразитических червей.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны факты наличия в геномах описторхид генов, кодирующих белки биотрансформации и транспорта ксенобиотиков;

применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр биоинформатических, молекулярно-биологических и биохимических исследований, позволивший оценить структурно-функциональную организацию системы метаболизма и транспорта ксенобиотиков у описторхид;

изложены факты, свидетельствующие о важной роли белков цитохромов Р450 в поддержании фенотипа и выживаемости гельминтов;

раскрыты принципиальные отличия состава ферментов фазы 1 и 2 метаболизма ксенобиотиков у свободноживущих и паразитических видов плоских червей и круглых червей;

изучены принципиальные возможности использования белков системы метаболизма и транспорта ксенобиотиков как потенциальных молекулярных мишеней для разработки антигельминтных препаратов;

проведена модернизация методов тестирования антигельминтной активности соединений *in vitro*, что позволило получить в рамках выполнения диссертационной работы новые сведения о механизмах действия препаратов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены материалы практических занятий и семинаров в Новосибирском Государственном Университете, а также, лекций в курсе «Молекулярная биология» для студентов медико-профилактического факультета Новосибирского государственного медицинского университета;

определены специфические оксистерольные метаболиты *O. felineus* в лизатах взрослых червей, яйцах гельминтов, а также в крови, моче и желчи зараженных хомяков;

создана принципиальная возможность использовать метод детекции паразит-специфических метаболитов для разработки малоинвазивных методов диагностики описторхоза;

представлены предложения по дальнейшему совершенствованию применения результатов диссертационной работы, учитывая высокую антигельминтную активность ингибиторов Р450 монооксигеназ, при создании новых лекарственных препаратов для лечения не только инвазии печеночных сосальщиков, но и других заболеваний человека и животных, вызванных трематодами.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: для экспериментальных работ результаты получены с использованием сертифицированного

оборудования, их воспроизводимость подтверждалась 3-4-кратными повторами, а качество - референсными контрольными образцами;

теория исследования структурно-функциональной организации системы биотрансформации ксенобиотиков построена на известных литературных данных и согласуется с экспериментальными результатами, опубликованными по теме диссертации;

идея базируется на анализе данных научной литературы, обобщении передового опыта теоретических и экспериментальных исследований функциональной геномики шистосомид и фасциOLID, а также собственных исследований структуры и функции белков;

использованы данные более 100 научных источников мировой литературы по геномике плоских червей к началу выполнения диссертационной работы;

установлено сходство авторских результатов по структуре системы P450 у других видов плоских червей – шистосомид и цестод, появившихся в центральной печати на несколько лет позже работ автора диссертации;

использованы современные методы получения и анализа данных, включая статистическую обработку с помощью компьютерных программ «Statistica 7.0», «GraphPad Prism 7.0» и библиотек команд «mortality» и «drc 3.0-1» (v.2.38) R.

Личный вклад соискателя заключался в планировании экспериментов, в получении, обработке и интерпретации большинства экспериментальных данных; подготовке основных публикаций по теме диссертации.

Кроме самого соискателя, в экспериментальной оценке антигельминтной активности веществ и в секвенировании генов *O. felineus* принимали участие Шилов А.Г., Пирожкова Д.С., Максимова Г.А., Ковнер А.В., Катохин А.В (ИЦиГ СО РАН); в выполнении биоинформатического анализа геномов и транскриптомов принимал активное участие Ершов Н.И. (ИЦиГ СО РАН); при выполнении флуоресцентной микроскопии принимали участие сотрудники ЦКП микроскопического анализа биологических объектов Байбородин С.И. и Задесенец К.С.; при анализе специфических оксистерольных метаболитов



литов описторхид принимал активное участие координатор научных программ доктор Жозе Мануэль Коста (Университет Порту, Португалия). Общее руководство отдельными этапами работы осуществлял Мордвинов В.А.

На заседании 17.03.2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Пахаруковой М.Ю. ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 10 докторов наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, биологические науки, участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовал: за - 21, против - 1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета

Ученый секретарь

диссертационного совета

17.03.2017 г.



Агафонов А.П.

Зубавичене Н.М.