

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**на диссертацию на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук Мустафиной Альфии Радмировны на тему:**  
**«Микроскопическая анатомия паразита трески**  
***Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllbothriidea)»**  
**по специальности 1.5.12 – «зоология»**

Диссертационная работа Мустафиной Альфии Радмировны посвящена детальному исследованию тонкого строения паразита трески - плероцеркоида *Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllbothriidea).

**Актуальность** исследования заключается в следующем. Паразитические плоские черви, Platyhelminthes, представляют собой большую и широко распространённую группу организмов, которые паразитируют в различных органах и тканях человека и животных. Этим определяется большое общебиологическое, а также практическое значение этой группы паразитических организмов, поскольку вызываемые ими болезни представляют большую медицинскую, ветеринарную и экономическую проблему.

Представители отряда Diphyllbothriidea являются опасными паразитами, в том числе и для человека. Сведения о тонком строении цестод отряда Diphyllbothriidea очень ограничены, при этом соответствующие данные, касающиеся цестод рода *Pyramicocephalus* и, в частности, *P.phocarum* в литературе отсутствуют совсем.

Тема диссертации представляется весьма актуальной в плане расшифровки механизмов, лежащих в основе паразито-хозяйинных отношений и структурных адаптаций к паразитическому образу жизни. Кроме того, сведения о строении органов и тканей представителя отряда Diphyllbothriidea, расширяют наши представления об общих закономерностях и принципах

морфологической и функциональной организации исследуемого паразита и цестод в целом

Плероцеркоиды цестод отряда Diphyllbothriidea обитают в промысловых рыбах, ухудшают их товарное качество и, таким образом, имеют большое значение в хозяйственной деятельности человека.

Следует отметить также, что создание новых антипаразитарных препаратов остается актуальной задачей, поэтому результаты исследования морфо - функциональной организации дифилоботриид представляют фундаментальную основу для создания новых эффективных препаратов при лечении цестодозов.

Цель работы – изучение микроскопической анатомии и ультраструктурной организации личинки цестоды - плероцеркоида *P. phocarum*, паразита беломорской трески *Gadus morhua*. Поставленная цель достигалась путем последовательного решения ряда задач, среди которых - установление систематической принадлежности исследованных личинок цестод; изучение тонкого строения тегумента, фронтальных желез, мышечной, нервной и выделительной систем паразита; проведение сравнительного анализа тонкого строения *Pyramicosepaus phocarum* и других видов цестод для выявления как специфических, так и общих черт организации исследуемого объекта.

Для решения поставленных задач автор использует комплекс современных методов: молекулярной филогенетики, световой, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии, иммуноцитохимические методы и метод конфокальной сканирующей лазерной микроскопии.

**Новизна.** В результате проделанной работы диссертант впервые подтвердил систематическую принадлежность исследуемых личинок цестод, извлеченных из беломорской трески, к виду *P. phocarum*. В работе приводятся

новые данные о биологии паразита, предложена гипотеза о роли беломорской трески в качестве резервуарного хозяина в жизненном цикле *P. phocarium*

Впервые получены новые приоритетные данные о тонкой морфологии, ультраструктуре и иммуноцитохимических характеристиках систем органов исследуемого объекта. Автор изучил микроскопическую анатомию тегумента, базального матрикса, фронтальных желёз, мышечной, нервной и выделительной систем плероцеркоида *P. phocarium* и выявил наличие ряда уникальных черт в их тонком строении. Так, впервые для отряда Diphyllbothriidea описаны новые структуры - радиальные заякоривающие филаменты в базальном матриксе тегумента. При исследовании цитохимической и структурной организации нервной системы автор впервые показал, что центральная нервная система плероцеркоида *P. phocarium* характеризуется низкой концентрацией нервных элементов, мозговая комиссура имеет рыхлое строение. В работе получены новые сведения о наличии и локализации в нервной системе паразита нейрональных сигнальных веществ – серотонина, нейропептида FMRF-амида, гамма-аминомасляной кислоты., приводятся данные о функциональном значении выявленных нейромедиаторов.

На основании сравнительного анализа строения нервной и железистой систем у плероцеркоида *P. phocarium* и других представителей дифиллоботриид диссертантом выдвинута оригинальная концепция о нейро-железистом мозге, который характеризуется архитектурной, ультраструктурной и функциональной ко-локализацией двух систем.

Диссертантом впервые получены данные об архитектуре, ультратонком строении и цитохимии экскреторной системы плероцеркоида *P. phocarium*, предложено унифицировать имеющиеся разрозненные термины при описании выделительной системы цестод. Впервые для класса цестод на ультраструктурном уровне показано наличие множественных нефропор,

открывающихся в терминальный экскреторный канал, что является уникальным явлением, впервые описанным у цестод.

Полученные диссертантом результаты имеют большое значение при сравнительном морфологическом анализе неодермат

**Структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 186-и страницах, построена по традиционному плану и включает 5 глав - «Введение», «Литературный обзор», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», а также разделы «Заключение», «Выводы», «Благодарности», «Список литературы» и «Приложение». Список литературы состоит из 247 источников, из которых 51 на русском языке. Приложение включает 2 таблицы и 33 листа иллюстраций.

По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Результаты исследования доложены на отечественных и зарубежных конференциях.

На защиту выносятся четыре положения, которые подтверждаются сделанными выводами.

**В Главе 1 - Введение**, изложенной на 10 страницах, автор приводит сведения о жизненном цикле исследованного объекта, обосновывает актуальность темы диссертации, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, определяет цели и задачи исследования, положения, выносимые на защиту. Диссертант подчеркивает, что методологической основой данного исследования является сравнительный анализ комплекса данных, полученных в результате применения современных методов и подходов.

**В Литературном обзоре (Глава 2)**, включающем 14 страниц, последовательно рассмотрены вопросы систематического положения исследуемого объекта, *P. phocarium*, биологии представителей отряда

Diphyllbothriidea и строения систем органов ленточных червей. В разделе 2.3.4 также подчёркивается наличие в литературе большой разрозненности терминов, используемых при описании выделительной системы цестод. В прилагаемой таблице 1 автор приводит список терминов, которые применяются в данной работе.

**В Главе 3 - Материалы и методы** (7 страниц) представлена подробная информация об использованном в работе гельминтологическом материале, его фиксации и подготовке к последующему исследованию. Помимо плероцеркоидов *P. phocarum* (отряд Diphyllbothriidea), при сравнительном исследовании строения выделительной системы использованы также три другие вида цестод – плероцеркоиды *Shistocephalus solidus* (из колюшки) (Diphyllbothriidea) и *Nybelinia surmenicola* (из *тепнуга*) (Trypanorchyncha) и половозрелые особи из отряда Caryophyllidea - *Caryophyllaeus laticeps* (из леща).

Следует отметить большой спектр методов, которые применил диссертант в данном комплексном исследовании: это методы молекулярной генетики; метод видеорегистрации двигательной активности цестоды, а также методы световой, трансмиссионной, конфокальной, сканирующей микроскопии. При исследовании нервной системы и нейромедиаторов также применены иммуноцитохимические методы. Протоколы применяемых методик подробно описываются в работе.

**Глава 4 Результаты** изложена на 40 страницах и включает несколько разделов. В первом из них приводятся данные о филогенетическом положении вида *P. phocarum*, далее (раздел 4.2) подробно описывается характер двигательной активности извлеченного из соединительно-тканной капсулы плероцеркоида.

Основной объем результатов исследования посвящен описанию микроскопической анатомии и ультраструктурной организации систем органов плероцеркоида *P. phocarum*, а именно, строению тегумента, базального матрикса и мышечной системы (4.3.1), нервной системы (4.3.2); фронтальных желез (4.3.3), протонефридиальной системы (4.3.5). В последнем разделе (4.3.6) приводятся результаты сравнительного исследования микроскопической анатомии выделительной системы представителей различных отрядов цестод. В конце каждого раздела автор приводит краткое заключение.

В работе подробно описывается ультраструктурная организация тегумента, важнейшей структуры, осуществляющей взаимодействие паразита и хозяина (раздел 4.3.1). На поверхности дистальной цитоплазмы тегумента обнаружены три разных типа микротрихий, морфология которых подробно описывается автором. Впервые для дифиллоботриид в базальном матриксе тегумента обнаружены радиально направленные закоривающие филаменты, описан характер их соединения с базальной пластинкой и с субтегументальной мускулатурой. Высказывается предположение, что эти структуры осуществляют опорную функцию.

При исследовании мышечной системы, диссертант подробно описывает выявленные мышечные слои, их расположение, размер и состав миофибрилл.

Большой раздел (4.3.2) посвящён исследованию нервной системы плероцеркоида, приводятся данные об общей архитектуре нервной системы, наличии нейрональных сигнальных веществ, ультраструктуре нейронов, синаптических контактов и сенсорных органов.

Анализируя полученные результаты автор отмечает сходные черты и различия в строении нервной системы плероцеркоида *P. phocarum* по сравнению с другими представителями дифиллоботриид. Среди специфических особенностей строения центральной нервной системы характерных для *P.*

*phocarum*, автор отмечает такие признаки как рыхлое расположение нейритов медианной комиссуры мозга, а также присутствие в комиссуре и вокруг долей мозга железистых клеток и наличие нейро-железистых синаптических контактов в мозге.

Значительный раздел работы посвящён исследованию в нервной системе плероцеркоида *P. phocarum* нейромедиаторных веществ. В связи с этим большой интерес представляют полученные автором данные о наличии в отделах нервной системы паразита нервных структур иммунореактивных к серотонину (5-НТ), нейропептиду FMRFамиду и гамма-аминомасляной кислоте (ГАМК). В работе подробно описываются детали локализации выявленных структур и иннерации ими мускулатуры ботрий, сколекса, тела паразита, а также фронтальных желез. Полученные результаты свидетельствуют о важной функциональной роли выявленных нейротрансмиттеров в деятельности нервной системы плероцеркоида *P. phocarum*.

В ходе исследования ультраструктуры нервной системы плероцеркоида *P. phocarum* автор обнаружил в сколексе в составе мозга и церебральной комиссуры 4-е типа нейронов: «светлые и тёмные нейроны» (отличающиеся по структуре цитоплазмы перикариона), нейросекреторные нейроны и гигантские нейроны медианной комиссуры. При описании ультраструктуры сенсорных органов автор отмечает наличие ресничных и безресничных свободных нервных окончаний четырех типов.

В медианной комиссуре и латеральных долях мозга автором показано наличие множество синапсов на мембране железистых клеток, что свидетельствует о регуляции нервной системой функции фронтальных желез. Кроме нейро-железистых контактов, в латеральных долях мозга и комиссуре выявлены также нейромышечные контакты, что предполагает участие нервной системы в регуляции двигательной активности плероцеркоида.

Подводя итог, диссертант заключает, что мозг *P. phocarum* состоит из комплекса нейронов и секреторных клеток, а также железистых клеток, которые тесно взаимодействуют с помощью синаптических контактов. Такое расположение желез вокруг латеральных долей мозга и мозговой комиссуры приводит к формированию единого нейро-железистого комплекса – нейро-железистого мозга.

Далее в разделе 4.3.3 диссертант приводит описание строения железистого аппарата плероцеркоида. Автор подробно описывает ультраструктуру 4-х структурных элемента системы фронтальных желез. Исследуя терминальную часть фронтальных желёз автор приводит данные об иннервации фронтальных желёз FMRFамид иммунореактивными нервными структурами.

Последние два раздела четвёртой главы (разделы 4.3.5 и 4.3.6) посвящены исследованию протонефридиальной системы плероцеркоида *P. phocarum*, а также сравнительному исследованию строения экскреторной системы трёх других видов цестод, представителей различных отрядов.

Следует подчеркнуть, что экскреторная система ленточных червей изучена чрезвычайно слабо и односторонне (в основном имеются данные исследования ультраструктуры протонефридия). Поэтому представляются очень важными полученные диссертантом результаты исследования ультраструктуры всех отделов выделительной системы у исследованного объекта.

В работе впервые описана общая архитектура протонефридиальной системы *P. phocarum*. Обнаружение множественных нефропор у плероцеркоида – уникальное явление, впервые описанное для цестод на ультраструктурном уровне. Представляют интерес также сведения о наличии в главных выделительных каналах мышечных волокон, их интенсивной иннервация, а также присутствие в стенке терминальной поры сенсорных органов. В работе



автор подробно описывает структуру протонефридий, получены данные о наличии фибриллярного актина в стенке ресничных клеток, а также об участии нейромедиатора серотонина в их деятельности.

В разделе 4.3.6 приводится сравнительная характеристика микроскопической анатомии заднего отдела выделительной системы на примере исследования 3-х различных видов цестод - плероцеркоидов *Shistocephalus solidus*, (Diphyllobothriidea) и *Nybelinia surmenicola* (Trypanorchyncha) и взрослой особи *Caryophyllaeus laticeps* (Caryophyllidea). Проведённый автором анализ позволил выявить сходство и различие в строении каудальных отделов выделительной системы цестод.

**Глава 5 - Обсуждение результатов** занимает примерно такой же объем, что и результаты (39 страниц). Глава состоит из нескольких разделов, в которых автор проводит тщательный и глубокий анализ полученных данных. В первом из них обсуждаются вопросы филогенетического положения исследованного паразита. Рассматривая вопросы, касающиеся жизненного цикла паразита, автор выдвигает предположение, что треска может играть роль резервуарного хозяина *P. phocarum*.

Основной раздел этой главы посвящен обсуждению микроскопической анатомии систем органов исследованного паразита. Анализируя полученные результаты диссертант отмечает черты сходства и различия в тонком строении систем органов исследованного плероцеркоида *P. phocarum* по сравнению с другими представителями дифиллоботриид и цестод других отрядов. При обсуждении результатов широко представлен морфо - функциональный аспект. Большое внимание уделяется вопросам, связанным с функциональным значением нейротрансмиттеров - серотонина, нейропептида FMRFамида, гамма-аминомасляной кислоты у цестод. В этом разделе также обсуждаются вопросы терминологии при описании выделительной системы цестод.

В Заключении приводится краткое обобщение полученных данных

Работа хорошо оформлена, выполнена на большом объеме материала, иллюстрационный материал (электроннограммы, фото с конфокального микроскопа, схемы) - высокого качества и наглядно отражает этапы и результаты проведенных исследований, а также свидетельствуют о высокой квалификации диссертанта.

Положения, выносимые на защиту и выводы, сформулированные в диссертации, полностью обоснованы, их достоверность и новизна не вызывает сомнений. Опубликованные научные статьи полностью отражают материалы диссертационной работы.

Автореферат в полной мере соответствует структуре и содержанию диссертации.

Положительно оценивая работу, можно высказать некоторые замечания и пожелания, которые, в основном, носят редакционный характер.

**1.** При оформлении рисунков представляется целесообразным поместить иллюстрации непосредственно в тех главах, к которым они относятся;

**2.** В тексте диссертации встречаются неудачные выражения: например, - «*дополнительные ультраструктурные работы* (Gustafsson, 1984) (стр. 89)»; «*канальная система*», - «*физиологический раствор по крови трески*» (стр. 29); «*циркуляция мочи* и продуктов обмена» (вывод 8), вероятно, речь идет о «*циркуляция жидкости* и продуктов обмена» плероцеркоида;

**3.** 3-е Положение диссертации - «*Мощно развитый аппарат фронтальных желез *P. phocaenae* функционирует под контролем нервной системы, получая синапсы от нейронов мозга при участии FMRFamide-IR нейропептидов*» - может быть изложено более кратко, например, -

«Регуляция функции мощно развитого аппарата фронтальных желёз осуществляется при участии FMRFамидергических нервных структур»;

4. Вывод 3. - «Впервые установлена FMRFamide-эргическая регуляция выброса секрета фронтальных желёз». Вероятно, более точной будет формулировка - «Впервые установлена FMRFamide-эргическая регуляция функции фронтальных желёз»;

5. В Табл. 4 автор приводит термины, которые он использует в работе при описании выделительной системы, а именно, «терминальная ресничная клетка», «пламенная клетка». Однако, в тексте диссертации при обозначении этой структуры употребляются также и другие термины - циртоциты, протонефридий, мерцательная клетка и др.

6. при определении структуры, которая описывается автором как *нейро-железистый мозг* и которая характеризуется тесным расположением элементов фронтальных желёз вокруг мозга и мозговой комиссуры, более подходящим представляется термин *нейро-железистый комплекс или нейро-железистая система*;

7. В Оглавлении при обозначении нумерации разделов после раздела 4.3.3 идёт раздел 4.3.5 (раздел 4.3.4 пропущен);

8. Работа состоит из 5-и Глав, каждая из которых содержит разделы. В то же время в Главе 4 (Результаты) разделы обозначены как Главы (Глава 4.1, Глава 4.2 и т.д.), что не соответствует структуре диссертации;

9. При исследовании ультраструктуры нервной системы плероцеркоида *P. phocarum* автор обнаружил в составе мозга и церебральной комиссуры 4-е типа нейронов: светлые, темные, нейросекреторные нейроны и гигантские нейроны. Было бы интересно обсудить, какие возможные нейромедиаторы включают данные нейроны.

Сделанные замечания и пожелания не носят принципиальный характер и не влияют на общую высокую оценку работы.

Оценивая диссертацию в целом, следует заключить, что в результате исследования микроскопической анатомии паразита трески *Pyramicoscephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllbothriidea) Мустафиной Альфии Радмировны впервые получен большой фактический материал. Результаты проведённого исследования вносят значительный вклад в понимание особенностей микроскопической, ультраструктурой, а также морфофункциональной организации паразитических червей и расшифровку сложных эволюционно закреплённых механизмов взаимоотношений в системе паразит-хозяин.

Диссертационная работа Мустафиной Альфии Радмировны представляет законченное, большое, многоплановое, тщательно выполненное с помощью современных методик трудоёмкое исследование по актуальной теме, имеющей большое научно-практическое значение.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.12 – «зоология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова. Диссертационная работа оформлена согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационных советах Московского государственного университета.

Таким образом, соискатель Мустафина Альфия Радмировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – «зоология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник

лаборатории фауны, экологии паразитов и экспериментальной паразитологии  
центра паразитологии Федерального бюджетного учреждения науки Институт  
проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова Российской академии наук

Надежда Борисовна Теренина

«15» ноября 2022 года

Контактные данные:

телефон:

Электронная почта:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:  
03.00.19 –«паразитология, гельминтология»

Адрес места работы:

119071 Москва, Ленинский проспект, 33

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «ИНСТИТУТ  
ПРОБЛЕМ ЭКОЛОГИИ И ЭВОЛЮЦИИ ИМ. А.Н.СЕВЕРЦОВА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» (ИПЭЭ РАН), центр паразитологии,  
лаборатория фауны, экологии паразитов и экспериментальной паразитологии,  
Тел.: 8 (495) 954 50 34, e-mail: [admin@sevin.ru](mailto:admin@sevin.ru)

Подпись ведущего научного сотрудника ФГБУН «Институт проблем экологии  
и эволюции им. А.Н.Северцова РАН»

Терениной Надежды Борисовны удостоверяю:

Ученый секретарь ИПЭЭ РАН

д.б.н. Н.Ю.Феоктистова

«15 ноября 2022 г.