

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЭКОЛОГИИ И ЭВОЛЮЦИИ им. А.Н. СЕВЕРЦОВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИПЭЭ РАН)

119071, Москва, Ленинский проспект, дом 33
Тел. 8 (495) 633-09-22, 8 (495) 954-28-21, 8 (495) 952-20-88
Факс 8 (495) 954-55-34, e-mail: admin@sevin.ru
www.sev-in.ru

25.04.2022 № 12510- 04-07/24

На № _____



Утверждаю:

Директор ФГБУН ИПЭЭ РАН

доктор биологических наук, профессор РАН

С.В. Найденко С.В. Найденко
«25» апреля 2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН) на диссертацию Сидор Евгении Александровны на тему **«Количественная оценка содержания гликогена в качестве показателя энергетического обмена у гельминтов»**, представленную для защиты по специальности 1.5.17 – Паразитология на соискание ученой степени кандидата биологических наук в диссертационный совет Д 24.1.249.02, созданный на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»

Актуальность темы диссертационной работы. Биохимические исследования гельминтов позволяют пополнить знания об особенностях физиологических процессов у этой обширной группы паразитических организмов, создают фундаментальную основу для совершенствования методов лечения и профилактики паразитарных заболеваний. Данные, полученные отечественными и зарубежными исследователями, показывают, что гликоген играет весьма важную роль в энергетическом обмене у паразитических червей. В то же время, эти работы затрагивали лишь небольшое количество видов гельминтов, что обусловлено методическими и организационными особенностями исследований. Целый ряд аспектов, касающихся роли гликогена, как источника энергии у гельминтов, в том числе и у видов гельминтов, опасных для человека, оставался недостаточно изученным. Весьма важными являются исследования динамики содержания гликогена у гельминтов на разных этапах их жизненного цикла, а также при воздействии антигельминтиками. Прояснение этих вопросов способствует подбору оптимальных схем лечения и совершенствованию различных аспектов профилактики гельминтозов. Основой для получения точных данных о содержании гликогена у гельминтов является работа по адаптации методики измерения концентрации этого полисахарида в применении к паразитическим червям. Таким образом, актуальность темы диссертационной работы Евгении Александровны Сидор не вызывает сомнений.

Цель и задачи исследования. Целью исследования являлось усовершенствование методики количественного определения содержания гликогена в гельминтах и применение этой методики на разных этапах жизненного цикла паразитических червей, в том числе при воздействии неблагоприятных факторов. Задачами исследования являлись адаптация методики определения концентрации гликогена для работы с паразитическими червями; исследования динамики концентрации гликогена у трихинелл на различных стадиях жизненного цикла; исследования динамики концентрации гликогена у фасциол на различных стадиях жизненного цикла, в том числе и при воздействии антигельминтиками.

Научная новизна диссертационной работы Е.А. Сидор заключается в следующем:

- усовершенствована количественная методика определения содержания гликогена в личинках и имаго гельминтов
- получены новые данные о концентрации гликогена у трихинелл на различных этапах жизненного цикла
- изучена взаимосвязь концентрации гликогена и способности к заражению у личинок трихинелл, сохранявшихся в инвазионном материале в естественных условиях
- получены данные о динамике содержания гликогена у трематод *Fasciola hepatica* на разных этапах жизненного цикла, при изменении условий внешней среды и при воздействии антигельминтиков.

Научная новизна исследований подтверждена патентом на изобретение.

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в разработке метода количественной оценки содержания гликогена у гельминтов, который в дальнейшем может быть применен для исследования большого количества видов паразитических червей – объектов как медицинской, так и сельскохозяйственной паразитологии. Таким образом, полученные Е.А. Сидор результаты закладывают основу для масштабных исследований по выживаемости и инвазивности гельминтов на разных этапах их жизненного цикла, при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды, при воздействии лекарственных препаратов.

Практическая значимость работы заключается в возможности применения полученных данных для тестирования методов и средств обезвреживания материалов, зараженных гельминтами. В частности, полученные результаты могут быть использованы при разработке профилактических мероприятий при трихинеллезе. Результаты изучения влияния различных температур на концентрацию гликогена в адолескариях *Fasciola hepatica*, выживаемость и инвазионность адолескариев могут быть использованы при составлении сезонных

прогнозов по заболеваемости фасциолезом. Данные, полученные при исследованиях изменения концентрации гликогена у фасциол после воздействия антигельминтиков, могут быть полезны при разработке новых схем терапии фасциолеза.

При участии Е.А. Сидор разработаны «Методические положения оценки инвазионной способности личинок гельминтозоонозов по содержанию гликогена», одобренные секцией «Инвазионные болезни» ВНИИП - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (протокол №3 от 25.10.2019 г.).

Степень достоверности и апробация результатов. В основе диссертационного исследования – хорошо зарекомендовавшие себя методы; объем выборки изучаемых объектов достаточен для решения поставленных задач и получения достоверных результатов. Достоверность полученных данных подтверждена статобработкой. Результаты, представленные в диссертации, прошли апробацию на российских и зарубежной научных конференциях.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, из которых 3 - в российских изданиях, рецензируемых ВАК РФ, 2 - в международном журнале, включенном в базу данных Web of Science (Q 1) и 2 – в международных журналах, индексируемых в Scopus. В публикациях в достаточной степени изложены основные положения и выводы диссертационной работы. Получен патент на изобретение. Подготовлены весьма подробные и объемные методические положения, предназначенные для врачей медицинского и ветеринарного профиля.

Личный вклад автора. Автор диссертационного исследования лично участвовала во всех его этапах (анализ литературных данных; культивирование и поддержание культуры нематоды *Caenorabditis elegans*; пробоподготовка и спектрофотометрические исследования, в том числе отработка методики на различных объектах и оптимизация условий проведения анализа; выделение гельминтов и определение их жизнеспособности; постановка экспериментов по изучению влияния антигельминтиков на фасциол; анализ и статистическая обработка полученных данных).

Оценка содержания диссертации.

Диссертационная работа изложена на 129 страницах компьютерного текста, также имеется приложение на 2 страницах (титульный лист «Методических положений» и копия патента на изобретение). Диссертация состоит из введения, обзора литературы, раздела собственных исследований (включающего материалы и методы, результаты и обсуждение результатов), заключения, практических предложений, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Список литературы включает 262 наименования, в том числе 86 работ на русском языке и 176 – на иностранных, преимущественно – на английском. Диссертация проиллюстрирована 14 таблицами и 12 рисунками.

В разделе «Введение» в краткой форме представлена основная суть работы - актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

В разделе «Обзор литературы» представлены результаты анализа значительного количества научных работ, большая часть из которых – статьи в авторитетных международных научных журналах. Обзор литературы хорошо структурирован, содержит подразделы с информацией об общих вопросах, касающихся роли гликогена в энергетическом обмене у гельминтов, а также данные о гликогене у трихинелл, фасциол и о методических проблемах определения содержания гликогена в гельминтах. Несмотря на большое количество проанализированных научных публикаций, автору удалось представить анализ данных по проблеме в достаточно компактной и доступной для восприятия форме и, в то же время, в полной мере обосновать актуальность собственных исследований, проведенных в рамках диссертационной работы.

Раздел «Собственные исследования» начинается с подраздела «Материалы и методы», в котором приведена информация об объектах исследования и некоторых методах, примененных в процессе работы над диссертацией. Надо отметить, что согласно цели и задачам диссертации, усовершенствование и адаптация методических подходов являлись неотъемлемой частью научно-исследовательской работы, поэтому значительная часть информации о методах

исследований приведена в последующих подразделах «Собственных исследований», рассказывающих непосредственно о полученных результатах.

«Результаты» имеют несколько подразделов, в которых последовательно приведена информация о результатах, полученных на разных этапах работы над диссертацией.

Автором была проведена отработка и адаптация спектрофотометрического метода определения концентрации гликогена на лабораторной модели - нематоде *Caenorhabditis elegans*, затем была проведена стандартизация метода с помощью исследования оценки влияния температурного фактора на результаты анализа.

Далее было установлено, какое количество личинок трихинелл необходимо использовать для определения содержания гликогена отработанным спектрофотометрическим методом, и изучена динамика концентрации гликогена в личинках *Trichinella spiralis* на мышечной стадии развития. Установлено, что на 14-е сутки после заражения лабораторных крыс, личинки *T. spiralis* содержат низкий уровень гликогена. Эти личинки подвижны, но не инвазионны. В дальнейшем гликоген в личинках накапливается, достигая максимальной концентрации через 4 месяца после заражения. После этого идет очень медленное снижение концентрации гликогена в личинках. Поставленный в рамках диссертационной работы длительный и кропотливый опыт (общей продолжительностью 20 месяцев) показал, что жизнеспособность личинок снижается за этот период лишь на 5%. Анализируя полученные данные, автор делает закономерный вывод, что накапливаемый на мышечной стадии гликоген необходим трихинеллам и в последующей (кишечной) стадии, когда личинка превращается в половозрелую трихинеллу.

Далее автор приводит результаты исследования динамики концентрации гликогена у *T. spiralis* на кишечной стадии, в течение первых суток после заражения. Измерения проводились через 3, 6 и 24 часа после заражения. Установлено быстрое расходование запасенного на мышечной стадии развития гликогена. Через 24 часа после заражения гликоген у трихинелл не обнаруживался.

В рамках диссертационной работы также был проведен интересный опыт по изучению динамики содержания гликогена у капсулообразующего (*T. nativa*) и бескапсульного (*T. pseudospiralis*) видов трихинелл в естественных условиях. Кроме того, на личинках *T. nativa* было проведено исследование динамики содержания гликогена и сохранения жизнеспособности при температуре, близкой к температуре тела (37 ± 1 °C).

Значительная часть диссертационного исследования посвящена изучению различных аспектов метаболизма гликогена у широко распространенной трематоды *Fasciola hepatica*, наносящей серьезный ущерб животноводству и, также как и трихинеллы, неоднократно отмеченной и у человека. Изучена динамика содержания гликогена в адолескариях (инвазионных личинках) *F. hepatica* при различных температурах. Установлено, что наиболее благоприятной для сохранения жизнеспособности адолескариев является температура окружающей среды около $+6$ °C. А при температуре 38 ± 2 °C концентрация гликогена значительно снижается уже на вторые сутки. Эти результаты имеют определенное практическое значение – например, могут быть полезны при составлении сезонных ветеринарных прогнозов по заболеваемости фасциолезом.

Также исследованы изменения содержания гликогена у фасциол при воздействии антигельминтиков. Известно, что альбендазол, по сравнению с триклабендазолом, имеет низкую эффективность против преимагинальных стадий фасциол. Автором получены данные, что однократная обработка альбендазолом не вызывает существенного снижения концентрации гликогена у преимагинальных стадий фасциол, что, в определенной степени, позволяет объяснить низкую эффективность этого препарата.

Раздел «Обсуждение» в сжатой форме обобщает полученные в рамках диссертационного исследования результаты и сравнивает их с имеющимися литературными данными. Обсуждение полученных результатов, в целом, выглядит достаточно логичным и цельным и подводит к выводам, сформулированным в следующих разделах диссертации.

В разделе «Заключение» сформулированы основные выводы, сделанные в результате анализа полученных результатов.

В разделе «Практические предложения» раскрываются возможности и перспективы применения спектрофотометрического метода оценки содержания гликогена в гельминтах и приводятся данные о разработанных с участием автора диссертации методических положениях и патенте на изобретение.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.

Автореферат в полной мере отражает основные положения диссертации. Выводы, приведенные в разделе «Заключение» автореферата, и в соответствующем разделе диссертации полностью совпадают. Практические предложения, приведенные в автореферате, и сформулированные в соответствующем разделе диссертации, полностью совпадают.

Замечания.

В процессе знакомства с текстом диссертационной работы Е.А. Сидор возникло несколько замечаний:

1. В названии диссертационной работы присутствует термин «гельминты», подразумевающий весьма обширную группу червей. Но, фактически, исследования затронули три вида нематод из рода *Trichinella* и один вид трематод (*Fasciola hepatica*). Следовало уточнить в названии диссертации, что исследования проведены на примере этих объектов. В то же время, название диссертации не отражает всей полноты проведенных исследований, в которых, наряду с оптимизацией метода, были получены новые важные результаты по метаболизму у вышеперечисленных гельминтов.

2. В тексте (возможно, в разделах «Обзор литературы» и «Материалы и методы») необходимо было обосновать выбор объектов, изученных в рамках данного диссертационного исследования. Почему были изучены именно эти виды гельминтов?

3. При опытах на трихинеллах исследования мышечной и кишечной стадии развития проведены на *Trichinella spiralis*, а исследования на жизнеспособность в естественных условиях (сохранность личинок в тушках крыс) – уже на других видах трихинелл (капсулообразующем *Trichinella nativa* и бескапсульном *Trichinella pseudospiralis*). С чем связана смена объектов исследования?

Перечисленные замечания не влияют на общее положительное впечатление от диссертационной работы Е.А. Сидор.

Заключение

Диссертация Сидор Евгении Александровны представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную автором самостоятельно, на достаточном для получения достоверных выводов материале. Автором использованы современные методические приемы, проведенные исследования актуальны для биологии, ветеринарии и медицины. Полученные результаты имеют важное теоретическое и практическое значение.

Диссертационная работа Сидор Евгении Александровны на тему: «Количественная оценка содержания гликогена в качестве показателя энергетического обмена у гельминтов» по актуальности, новизне, научной и практической значимости, объёму и методике проведённых исследований отвечает требованиям «Положения о порядке присуждении ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям такого ранга, а её автор заслуживает искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.17. - Паразитология.

Материалы диссертации и отзыв рассмотрены и одобрены на межлабораторном заседании лаборатории экологии, физиологии и функциональной морфологии высших позвоночных и лаборатории систематики и эволюции паразитов ИПЭЭ РАН (протокол № 1 от 25.04.2022 г., присутствовали на заседании 11 чел., проголосовали «за» - 11 чел., «против» - 0, воздержались - 0).

«Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук»,
119071, Москва, Ленинский проспект, дом 33, тел. 8 (495) 633-09-22, 8 (495) 954-28-21, 8 (495) 952-20-88, e-mail: admin@sevin.ru.

Отзыв составили:

главный научный сотрудник

лаборатории экологии, физиологии и функциональной

морфологии высших позвоночных ИПЭЭ РАН,

доктор биологических наук, профессор

(Наумова Елена Ивановна,

119071, г. Москва, Ленинский проспект, 33

тел. 8 (977) 817-55-16, e-mail: einaumova@gmail.com)

Е.И. Наумова

старший научный сотрудник

лаборатории систематики и эволюции паразитов,

Центра паразитологии ИПЭЭ РАН,

Кандидат биологических наук, доцент

(Кузнецов Дмитрий Николаевич,

119049, г. Москва, ул. Мытная, д. 28, стр. 1

тел. 8 (499) 236-21-30, e-mail: dkuznetsov@mail.ru).

Д.Н. Кузнецов

Подписи Е.И. Наумовой и Д.Н. Кузнецова заверяю:



Подпись Наумовой ЕИ
Заверяю, зав. канц. ИПЭЭ РАН Шул
"25" "04" 2022 г.

Подпись Кузнецова ДН
Заверяю, зав. канц. ИПЭЭ РАН Шул
"25" "04" 2022 г.