

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертационной работе О. И. Лазаревой
на тему «Цитопатическое действие соматического экстракта *Anisakis simplex* L3 на эукариотические и прокариотические клетки», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.11 — паразитология

Актуальность выбранной темы диссертационной работы О.И. Лазаревой не вызывает сомнения. Анизакидоз — одна из важных социальных проблем современности. Заболевание вызывается паразитированием личиночных стадий нематод семейства Anisakidae в желудочно-кишечном тракте человека и сопровождается схваткообразными болями в кишечнике, тошнотой, рвотой, кашлем. Заражение человека происходит при употреблении в пищу морской рыбы и моллюсков, содержащих инвазионные стадии этих паразитов. Впервые данная патология была диагностирована в Голландии в 1955 г. К настоящему времени зарегистрированы сотни и тысячи заболевших в странах Европы, Северной и Южной Америки, Юго-Восточной Азии. Заболеваемость людей имеет стойкую тенденцию к росту по мере увеличения потребления в пищу морских рыб, креветок, кальмаров, осьминогов и других продуктов моря.

В последние годы стало известно о патогенном влиянии на людей не только живых личинок, но и рыбы, содержащей погибших личинок *Anisakis simplex*. Известно, что белки, входящие в состав соматических и экскреторно-секреторных продуктов погибших личинок *A. simplex*, обладают не только аллергическим, иммунологическим, но и цито- и кариопатическим действием (Сивкова, 2010, 2011). Исследования, посвященные влиянию погибших личинок *Anisakis simplex* на живые организмы, немногочисленны. Изучение реакции хозяина на соматический экстракт *Anisakis simplex* необходимо для понимания паразито-хозяинных отношений при паразитарных инвазиях и успешных поисков мер защиты и профилактики паразитарных болезней.

Целью работы О.И. Лазаревой явилось изучение влияния экстракта личинок нематоды *Anisakis simplex* на клетки живых организмов.

Согласно поставленной цели определены задачи, которые отражают этапы исследования автора.

1. Приготовление антигенного экстракта из гельминта, контроль его стерильности и безвредности, определение содержания белка.
2. Исследование дозозависимого эффекта экстракта из личинок *A. simplex L3* на гематологические показатели, соматические и половые клетки лабораторных мышей.
3. Исследование влияния экстракта на развитие куриных эмбрионов.
4. Изучение влияния экстракта *A. simplex L3* на одноклеточные организмы *Paramecium caudatum*, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и культуры клеток микроорганизмов *Micrococcus sp.*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium* и *Bacillus subtilis*.

Диссертация Ольги Игоревны имеет традиционную структуру и изложена на 135 страницах компьютерного текста. Она состоит из обзора литературы и собственных исследований, включающих материалы и методы исследований, результаты, обсуждение, выводы, практические предложения, приложение. Список литературы содержит 265 источников, в том числе 119 отечественных и 146 иностранных. Работа иллюстрирована 9 таблицами, 27 рисунками.

В вводной части диссертации обосновывается актуальность темы, выбор объектов исследования, ставятся цели и задачи исследования, описывается научная новизна и практическая значимость работы, излагаются основные защищаемые положения диссертации, приводятся сведения об апробации работы.

Знакомство с главой, посвященной обзору литературы, показывает, что автор хорошо ориентируется в современных исследованиях, посвященных влиянию гельминтов на клетки живых организмов. Представлены литературные данные о составе и свойствах белковых компонентов *Anisakis simplex*. Приведены сведения о влиянии гельминтов, их метаболитов и экстрактов на клетки и процесс их деления, воздействие на клетки крови, культуры клеток, эмбрионы млекопитающих и птиц, а также на бактерии. Анализ значительного объема литературы позволил автору сделать вывод о том, что многие вопросы, связанные с воздействием белковых продуктов *A. simplex* на клетки животных и микроорганизмов, еще ждут своего решения.

Глава 2 содержит сведения о материале и методах исследований. Она подразделяется на несколько подглав. В первой подглаве описываются объекты иссле-

дования и их получение. Во второй и последующих подглавах изложены по порядку методы изучения вопросов, определенных задачами исследования: изучение дозозависимого влияния экстракта личинок на гематологические показатели лабораторных мышей; изучение патоморфологических изменений в органах мышей под действием разных доз соматического экстракта *A. simplex*; изучение дозозависимого кариопатического действия соматического экстракта *A. simplex* на соматические и половые клетки лабораторных мышей; изучение влияния соматического экстракта на куриные эмбрионы; изучение токсического влияния экстракта на одноклеточные микроорганизмы; электронная микроскопия; изучение влияния белкового экстракта *A. simplex* на культуры некоторых микроорганизмов. Знакомство с главой показывает, что автором собран большой фактический материал и освоены необходимые методы для проведения экспериментов.

В главе «Результаты исследований» изложены материалы, полученные Ольгой Игоревной о цитопатическом действии соматического экстракта *Anisakis simplex* L3 на эукариотические и прокариотические клетки животных на разных уровнях организации. Эта глава также включает несколько подглав. В первой подглаве получены новые данные о разной активности гипериммунных сывороток от кроликов. Интересные результаты получены при изучении дозозависимого влияния экстракта *A. simplex* на гематологические показатели и функционирование органов лабораторных мышей (селезенки, печени и семенников). Они показывают, что исследуемый соматический экстракт является активным антигеном, при повышении дозы которого увеличивается степень ответной реакции хозяина на организменном и клеточном уровнях. Исключительную важность представляют результаты по патологии гемопоэтических клеток как предшественников клеток крови, дегенеративным изменениям структур клеток красного костного мозга, патологии мейоза в семенниках и ультраструктурным изменениям в митохондриях сперматоцитов белых мышей. Опыты с одноклеточными организмами, дрожжами и культурами клеток микроорганизмов демонстрируют сильное токсическое действие соматического экстракта личинок нематоды. На примере куриных эмбрионов Ольга Игоревна установила, что экстракт *A. simplex* оказывает негативное влияние не только на клеточном уровне, но и на организменном – задерживает рост и развитие на стадии эмбриогенеза.

По изложенному материалу у меня есть некоторые замечания, которые взаимосвязаны:

1. Какова была зараженность путассу личинками нематоды (индивидуальные колебания экз., средние значения)?
2. Какие соображения были положены в основу выбора доз соматического экстракта личинок нематоды: 100, 200, 500 и 1 тыс. мг белка на голову животного?
3. Каково соотношение задаваемых доз личинок и веса животного?

Следующие замечания являются скорее пожеланием:

1. Информация была бы более полной и достоверной при обработке материала методом дисперсионного анализа.
2. Таблицы несли бы большую информацию об индивидуальных реакциях экспериментальных животных, если бы в них была включена графа – пределы колебаний показателей. Как известно, пределы колебаний изучаемых показателей отражают индивидуальную реакцию объекта на внешнее воздействие.

Положения, выносимые на защиту, обоснованы. Выводы диссертационной работы О.И. Лазаревой соответствуют ее содержанию. Основные материалы опубликованы в центральных изданиях и апробированы на конференциях разного уровня. Работа хорошо оформлена и написана литературным языком. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

В целом, полученные в диссертационной работе новые данные вносят существенный вклад в изучение цитопатического действия соматического экстракта *Anisakis simplex* L3 на эукариотические и прокариотические клетки живых организмов. Ольга Игоревна показала, что на воздействие соматического экстракта *Anisakis simplex* L3 животные, находящиеся на разных ступенях организации, формируют ответные реакции на организменном и клеточном уровне. Результаты исследований О.И. Лазаревой имеют важное значение в решении вопросов, связанных с эпизоотологией заболевания человека анизакидозом как факультативного хозяина паразита. Теоретические положения диссертации могут быть включены в курс лекций по паразитологии.

Заключение

Диссертация О.И. Лазаревой, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной самостоятельной научно-

исследовательской работой, выполненной на высоком методическом уровне, которая вносит существенный вклад в понимание клеточных и гуморальных механизмов паразито-хозяинных отношений при паразитарных инвазиях, в поиске мер защиты и профилактики паразитарных болезней.

По объему выполненных исследований, степени новизны и практической значимости работа полностью соответствует требованиям пунктов 9 – 14 Постановления правительства РФ № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Ольга Игоревна Лазарева заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.11 – паразитология.

Официальный оппонент: Доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории паразитологии животных и растений, Института биологии – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» (ИБ КарНЦ РАН)

Е.П. Иешко

185910 ул. Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, Республика Карелия.

ieshkoep@gmail.com

+7 911 410 09 58

