

## ОТЗЫВ

официального оппонента

о диссертационной работе **КОЧНЕВОЙ Альбины Александровны**  
**«ПРОТЕОМЫ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЦЕСТОД НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ**  
**ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА»,**

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.17 - паразитология.

Диссертационная работа Альбины Александровны Кочневой представляет результат экспериментальных исследований протеомов цестод трех модельных видов. Анализ протеома входит в широкую практику исследования организмов самых разных таксономических групп. Возможности метода постоянно расширяются в связи с увеличением баз собственно белковых библиотек, количеством доступных геномов и транскриптомов, а также совершенствованием методов идентификации белков. Определение спектров белков организмов дает прекрасную возможность делать заключения о биохимических механизмах, лежащих в основе их адаптивных способностей, анализировать онтогенетические особенности биохимических реакций. Инструмент протеомного анализа позволяет сделать важный шаг в исследовании систем паразит-хозяин. Анализ белковых спектров паразитов и их динамики открывают возможности анализа биохимического уровня взаимодействия в таких системах; позволяют сделать паразитологический анализ на порядок более «функциональным». Представленная работа в полной мере соответствует этому направлению развития паразитологии. Она, безусловно, может быть обозначена как актуальное исследование. Тем более, что объектами работы выступают цестоды – группа, представители которой характеризуются удивительно глубокими адаптациями к паразитическому образу жизни.

Представленная диссертация базируется на материале, собранном и определенном автором. Его объем достаточен для валидной статистической обработки протеомных данных. Модельными объектами выступают три вида цестод: два вида рода *Triaenophorus* – *T. crassus* и *T. nodulosus*, а также *Schistocephalus solidus*.

Рукопись компактна. Вся работа, включая «Приложения» изложена на 112 страницах. Диссертация построена по традиционному принципу и включает необходимые для квалификационных работ разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материал и методы». Все результаты вместе с их обсуждением объединены в одну главу с достаточно дробной рубрикацией внутри. Помимо этого, имеются краткое «Заключение», раздел «Выводы», «Список использованной литературы», «Список сокращений и условных обозначений» и «Список иллюстративного материала». В разделе «Приложение» представлены таблицы с перечнем определенных в ходе исследования белков. Список литературы включает 252 источника, из них 35 отечественные.

Центральным элементом логической структуры работы является само определение белкового состава. Его результаты в сравнительном анализе применяются для сопоставления белкового состава различных частей тела организма цестод, различных фаз их жизненного цикла, паразитов из различных хозяев, онтогенетического изменения при *in vitro* инкубации. На основе полученных белковых спектров и соответствующих сравнений автор делает предположения о функциональных аспектах онтогенетических изменений и взаимодействий с хозяевами. Необходимо помнить, что фактологической основой

исследования является более или менее обширный (для различных вариантов сравнения) список белков. Именно их перечень является материалом для дальнейших предположений/трактовок их роли в том или иной процессе.

**Введение** содержит все необходимые для квалификационной работы структурные элементы. В том числе достаточно ясно изложенные цель и задачи исследования. В качестве замечаний и вопросов по этому разделу могу отметить следующее. (1) Раздел «Актуальность темы исследования» стилистически написан так, что некоторые тезисы автора просто сложно понять. (2) В разделе «Научная новизна» указано, что «Описание состава белков (протеома), как важнейшей компоненты метаболизма паразитических червей позволит раскрыть такие вопросы, как эволюционная история представителей типа Плоские черви...». Возникает вопрос как автор представляет себе реконструкцию эволюционной истории по набору белков специализированной группы. Набору, который, как сам автор утверждает, должен отражать в первую очередь адаптации к паразитизму, но не «филогенетический» сигнал. Кроме того, стоит отметить, что представления о «типе Плоские черви» в настоящее время являются достаточно архаичными. Набор групп плоских червей, в соответствии с нынешними представлениями, представляет собой довольно сложный набор филогенетических линий, зачастую весьма далеких друг от друга. Вероятно, стоило бы оперировать таксоном Neodermata, который монофилетически объединяет основные группы паразитических плоских червей. Это замечание относится к работе в целом, поскольку ни в одном ее разделе объекты исследования не определяются таксономически. (3) Очень важный раздел Положения, выносимые на защиту, также вызывает ряд вопросов. Первое положение говорит о том, что в разных частях тела цестоды обнаруживается отличающийся набор белков. Это утверждение, без добавления минимальной конкретики представляется настолько очевидным, что не требовало проведения специальных исследований. Особенно учитывая ясное функциональное зонирование стробилы. Второе положение утверждает, что имеется «биохимическое соответствие паразита и вида хозяина». В то же время то, что показывает работа – некоторые различия в белковом составе паразитов, извлеченных из разных видов рыб. На мой взгляд, это далеко не одно и то же, и до доказательства соответствия нужно пройти долгий путь. В четвертом положении имеется фраза «...повышенной секрецией белков в системе «паразит-хозяин...». Смысл ее неясен.

Раздел **Обзор литературы** дает хорошую сводку известной информации по метаболизму цестод в целом, динамике белкового состава в ходе их онтогенеза и составу секреторно-эксекреторных продуктов. Этот раздел, на мой взгляд, по сути можно достаточно высоко оценить. Хотя, если говорить о форме изложения, и здесь проявляется стилистическая неаккуратность. Вот ряд примеров: «...плероцеркоиды, паразитирующие в печени рыб, поглощают глюкозу, полученную из гликогена...», «Для получения глюкозы, как одного из необходимых питательных веществ, от своего хозяина, в тегументе ленточных червей *E. multilocularis* (Leuckart, 1863) была обнаружена экспрессия генов белков-переносчиков...» (с. 13), «...ингибирующую способность цестод против трипсина хозяина...» (с. 14), «наличие высокоэкспрессированных транскриптов, которые были представлены генами» (с. 19). Фраза «...цестоды являются уникальной группой паразитов, которые, вне среды первого порядка не способны на размножение» (с. 17) просто неверна, поскольку все облигатные паразитирующие на имагинальной стадии организмы иных таксономических групп, характеризуются тем же...

Раздел **Материал и методы** дает описание жизненных циклов цестод – объектов исследования, приводит краткую информацию о местах сбора объектов и далее подробно и

достаточно детально останавливается на методиках и этапах выполнения протеомных исследований. Эти описания вселяют уверенность, что вся последовательность действий от фиксации образцов — до определения белков и статистической обработки материала была выполнена в соответствии с протоколами и результаты работы базируются на надежном экспериментальном основании. Несколько менее подробно описывается методика транскриптомного анализа. В частности, не указано в чем производили фиксацию образцов, производилась ли фильтрация прочтений по качеству или они сразу пускались в сборку, неясным остается, когда, на какой стадии, производили удаление адаптеров. Надеюсь, что автор легко ответит на эти вопросы и отмеченные неясности связаны лишь с желанием автора быть максимально лаконичным при создании текста работы.

Возможно, более серьезный вопрос связан с краткостью изложения, касающегося источников и подготовки исходного материала для протеомных анализов. Дело в том, что их результат критически зависит даже от небольших различий в манипуляции с исходным материалом (зараженными хозяевами), от сезона сбора, от разнородности сборов по местам и по годам. Информация обо всем этом в работе приведена весьма скупо, а о некоторых важных аспектах (например, сезонной выровненности выборок), автор практически не упоминает.

Раздел **Результаты и обсуждения** (авторский вариант названия главы) структурирован в соответствии с блоками экспериментальной работы, решающими отдельные задачи работы. Сразу необходимо отметить, что и сама структуры главы, и решение автора совместить собственно изложение результатов анализов и комментарии к ним (обсуждение), представляются вполне обоснованными. Это облегчает чтение текста и понимание значения того или иного результата исследований.

Автор получил интересные и важные результаты, связанные с анализом белкового состава различных частей стробилы (по двум видам). В какой-то степени сами по себе различия белкового состава в связи со специализацией частей стробилы ожидаемы. Тем не менее, протеомный анализ позволяет обсуждать конкретную дифференцировку тела на уровне появления/изменения концентрации белков и обсуждать конкретные биохимические процессы, ведущие к этому. В частности, автор связывает изменение концентрации одних белков с деградацией тегумента в последовательных члениках по направлению к дистальной части тела. Не совсем понятна трактовка снижения концентрации  $\beta$ -тубулина, которую автор связывает с вовлечением его в продукцию яиц. Необходимо при этом предполагать также невозможность его идентификации в структуре яйца.

Отмечу данные по межвидовым различиям двух близких видов рода *Triaenophorus*, которые свидетельствуют о незначительных отличиях на уровне 2%. В то же время концентрация различных белков неодинакова и обнаружен как минимум один, при этом мажорный белок, характеризующий только *T. nodulosus*. Здесь, вероятно, просматривается перспектива для будущих функциональных исследований этого белка.

Результаты исследований плероцеркоидов *T. nodulosus* из различных хозяев также показывают определенные различия белкового состава. Автор связывает это со спецификой взаимодействия паразита с особями хозяев разного вида. Возможно, что продемонстрированные различия действительно имеют отношение к «межвидовым» по

хозяину особенностями среды обитания паразита. Однако, прежде чем делать окончательные выводы из полученных результатов протеомного анализа, представляется необходимым еще раз протестировать исходный материал. Так, автор указывает, что разные виды рыб были получены из Онежского и Ладожского озер, то есть, из различных водоемов. Неясно, получены ли они в один и тот же год и сезон года. Любая из этих причин «неравномерности» исходного материала может быть первичной причиной наблюдаемых различий.

Интересны данные, проливающие свет на потенциальные механизмы онтогенетических/фазовых изменений при переходе от стадии плероцеркоидов к половозрелым стробилам (лабораторный эксперимент с культивированием *Schistocephalus solidus*). Также как и ранее изменение белкового профиля ожидаемо, поскольку связано с резким изменением условий обитания и завершением продукции яиц у червей. Однако результаты автора впервые позволяют обсуждать биохимические основы адаптогенеза и обеспечения репродуктивной фазы.

Заключительная часть раздела приводит пример того, как протеомный анализ может быть применен для прямой оценки взаимодействия паразит-хозяин. Одновременное исследование смывов с поверхности тела плероцеркоидов *Schistocephalus solidus* и окружающей целомической жидкости особи их непосредственного хозяина (*Gasterosteus* sp.) позволяет обоснованно обсуждать механизмы взаимодействия паразит-хозяин. Показательно, что среди определенных белков хозяина значительная часть функционально связана с активацией иммунного ответа. В свою очередь набор определенных белков паразита связан с модуляцией иммунных реакций хозяина.

Раздел **Заключение** весьма лаконичен и фактически представляет резюме результатов протеомных анализов. **Выводы** (их всего четыре) сформулированы вполне четко в виде развернутых утверждений. Все выводы обоснованы материалом диссертационного исследования и методикой его обработки.

В заключение можно сказать, что представленная к защите диссертация представляет новые результаты, полученные лично автором методами транскриптомного и протеомного анализов. Полученные данные определяют направление дальнейших исследований взаимодействия группы специализированных паразитов со своими хозяевами; наблюдаемые при сравнениях белковые спектры позволяют строить обоснованные гипотезы о процессах, характеризующих отношения паразит-хозяин на молекулярном и физиологическом уровнях. Отмеченные в отзыве вопросы и замечания относятся по большей части к «технике изготовления» рукописи. Многие замечания имеют характер пожеланий.

В целом диссертация Кочневой Альбины Александровны «Протеомы некоторых видов цестод на разных стадиях жизненного цикла», соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, пп. 9-14 Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», а сам диссертант заслуживает присвоения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.17 - паразитология.

Текст автореферата в целом полно отражает основное содержание диссертации. Основные результаты обнародованы в публикациях автора (9 статей в периодических изданиях).

индексируемых международными библиографическими базами WoS/Scopus (4) и рекомендованных ВАК РФ (5)) по теме диссертации.

Профессор, заведующий кафедрой  
Зоологии беспозвоночных  
Санкт-Петербургского  
государственного университета,  
доктор биологических наук

Гранович Андрей Игоревич

04.06.2022

199034, Санкт-Петербург,  
Университетская наб. 7/9,  
тел. 8921951 76 83  
e-mail: a.granovich@spbu.ru