

ОТЗЫВ

официального оппонента д-ра биол. наук, доцента Плеховой Натальи Геннадьевны на диссертационную работу Власенко Анны Евгеньевны «Морфофункциональная организация тетродотоксин-содержащих структур у низкотоксичной гетеронемертины *Kulikovia Alborostrata*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология

Актуальность темы исследования. Выявление механизмов аккумуляции токсинов и их роли для животных их образующих одно из актуальных направлений современных исследований. Одним из подходов к решению этой проблемы является изучение организации тканей и клеток, накапливающих токсины, или участвующих в его переносе. Существует предположение, что токсины обеспечивают защиту животных и являются средством для нападения и коммуникации. Тем не менее, исследований демонстрирующих физиологические эксперименты, подтверждающих это предположение, небольшое количество. В основном, преимущественно эти работы посвящены физиологическим экспериментам на популярных высокотоксичных животных – рыбах, осьминогах, тритонах. Одним из малоизученных типов токсинов содержащих животных являются немертины, которые широко распространены в морях и океанах мира и изучение особенностей их строения и функционирования имеет важное значение для понимания механизмов адаптации и эволюции морских видов беспозвоночных. Гетеронемертины отличаются способностью накапливать токсины, а именно, тетродотоксин, который обладает мощным нервнопаралитическим действием. Некоторые виды из этих животных проявляют низкую токсичность, что вызывает научный интерес к механизмам регуляции накопления и распределения токсинов внутри их организма. Так, исследование структуры и функций тетродотоксин-содержащих органов гетеронемертин позволяет выявить механизмы, обеспечивающие накопление и выделение токсинов, что важно для разработки методов защиты от отравления этими веществами.

Тетродотоксин используется в медицине как анальгетик и анестетик, однако его высокая токсичность ограничивает широкое использование. Понимание процессов регуляции концентрации токсинов в организме *Kulikovia albostrata* может способствовать разработке новых подходов к снижению токсичности природных соединений и созданию эффективных препаратов на их основе. С другой стороны, анализ распространения и содержания токсинов в организмах гетеронемертин важен для оценки экологического риска, связанного с употреблением морской пищи. Некоторые морские животные способны аккумулировать высокие дозы токсинов, представляя угрозу здоровью потребителей. Определение факторов, влияющих на уровень токсичности, позволит разработать меры профилактики отравлений и повысить безопасность продуктов питания.

Таким образом, с вышеизложенных позиций представленные в диссертационной работе Власенко Анны Евгеньевны данные морфофункциональной организации тетродотоксин-содержащих структур у низкотоксичных гетеронемертин актуальны и представляют значительный интерес как с научной точки зрения, так и с позиций практических приложений в области медицины и экологии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертация является законченной научно-квалифицированной работой, выполненной с применением современных средств и методик проведения экспериментальных исследований, в том числе цитологических и физико-химических методов исследования, повторами экспериментов и использованием методов обработки информации. Полученные результаты достоверны, выводы аргументированы и отвечают поставленным целям и задачам.

Достоверность и новизна полученных результатов. Работа написана доступным языком, оформлена грамотно, иллюстрирована таблицами и рисунками. Автором подробно исследовано современное состояние проблемы, четко изложена методология, полученные данные обработаны с использованием адекватных статистических методов. Степень достоверности результатов основана на достаточном числе наблюдений при использовании современных методов исследования, адекватной статистической обработкой полученных данных. Результаты исследования прошли апробацию на различных научно-практических конференциях, конгрессах, симпозиумах, в том числе с международным участием. Личный вклад Власенко А.Е. состоит в участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования, а именно, в анализе современной зарубежной и отечественной литературы по изучаемой проблеме, проведении экспериментальных методов исследования, подготовке публикаций по теме выполненной работы.

В диссертационной работе Власенко А.Е. впервые проведено всестороннее исследование структуры и функций токсических элементов у конкретного вида немертин *Kulikovia albostrata*, включающее оценку индивидуальных различий, концентрационных характеристик, локализации токсинов и морфологических особенностей органа и клеток, участвующих в их накоплении и выделении. Для достижения поставленных целей использовались передовые технологии, такие как электронная и флуоресцентная микроскопия, а также высокочувствительная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией, что позволило значительно повысить точность и надежность полученных данных.

В работе впервые:

- исследовано поступление, накопление и экскреция тетродотоксина и его производных у представителей вида *K. Alborostrata*;
- показаны механизмы распределения токсинов в организме немертны и установлено наличие единого источника токсинов среди отдельных особей, что подтверждено методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС);
- показан процесс миграции токсинов внутри организма при отсутствии питания, что позволило продемонстрировать способность одного из них перемещаться из стенки тела в секреторные клетки и впоследствии элиминироваться вместе с выделяемым секретом, что подтвердило гипотезу о поступлении токсинов в организм животного с пищей;
- показана локализация токсинов в специфических клеточных структурах, включая прецеребральный отдел, ротовой аппарат и кутикулярные железы, где отмечается их наиболее высокая концентрация;
- показано наличие тетродотоксинов в клетках пищеварительного тракта, что указывает на их физиологическую роль в жизнедеятельности немертин.

Значимость для науки и практики результатов диссертационного исследования. Работа значительно дополняет и расширяет существующие представления о функционировании токсин-секретирующих структур и роли токсинов в реакции животных на раздражители окружающей среды. Эти данные вносят значительный вклад в понимание механизмов распространения и функций тетродотоксинов у немертин, открывая новые перспективы для дальнейших исследований. Работа выполнена методически грамотно, экспериментальные подходы убедительны, полученные результаты хорошо аргументированы и оригинальны. Представленные результаты расширяют существующие знания о механизмах биологического аккумуляирования и перераспределения токсических веществ в организмах, позволяя создать основу для дальнейших фундаментальных и прикладных исследований механизмов токсичности и экологического воздействия. Результаты диссертационной работы Власенко А.Е. открывают перспективы для понимания экологической значимости немертин как компонента экосистемы, накапливающего и распространяющего токсины среди других видов, а также для разработки мер защиты здоровья человека и морской фауны. Таким образом, представленный труд имеет значительную теоретическую и практическую значимость, демонстрируя высокий уровень исследовательской активности автора и потенциальную перспективность продолжения начатых исследований в будущем.

Оценка содержания работы. Диссертация изложена на 115 страницах и включает такие традиционные разделы как введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список литературы. Диссертация проиллюстрирована многочисленными качественно выполненными фотографиями и интуитивно понятными схемами. Также текст дополнен информативными таблицами. Список литературы включает 191 наименование, из них 190 на иностранном языке.

Во введении четко обоснованы актуальность темы, степень разработанности темы, цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическое и практическое значение работы, методология и методы диссертационного исследования, основные положения, выносимые на защиту и степень достоверности результатов.

В обзоре литературы автор подробно излагает данные из литературных источников, охватывающие вопросы химических свойств тетродотоксинов и его производных, их механизм действия, распространенность в природе и роль в жизнедеятельности токсичных животных, включая немертин, описывает их токсин-позитивные эктодермальные структуры.

В главе «материалы и методы» описан сбор немертин, приготовление экстрактов, подробно описаны эксперименты по изучению процесса секреции токсинов и динамики их содержания в теле немертин; представлены методические подходы, соответствующие поставленным задачам.

В главе «результаты» представлены данные о внутривидовой вариации концентраций тетродотоксинов и его производных у 36 особей *K. alborostrata*, предоставлены хроматограммы токсин-содержащих экстрактов немертин, описаны их содержащие структуры и морфологические особенности. Приведены результаты цитофизиологических экспериментов, имитирующих защитные реакции; описана локализация токсинов на разных этапах экскреции и данные по изменению их содержания в условиях длительного содержания без доступа пищи.

В главе «обсуждение» автор рассуждает о высокой степени различия концентраций токсинов ряда тетродотоксинов между особями *K. alborostrata*, рассматривает связь низкой вариабельности качественного состава немертин с наличием общего источника токсинов и роли токсин-позитивных железистых клеток хобота в иммобилизации жертвы и жизнедеятельности немертин.

Полученные в ходе работы данные систематизированы и структурированы в главе «заключение».

Выводы полностью соответствуют поставленным целям и задачам, основаны на полученных результатах и статистическом анализе значительного количества фактических данных.

Содержание диссертационной работы полностью соответствует теме.

Публикации. По теме диссертации опубликована 6 научных работ, 3 из которых индексируются в международных базах данных Web of Science или Scopus, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ. Результаты исследований прошли апробацию на различных научно-практических конференциях, симпозиумах, съездах, в том числе с международным участием.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации. В целом диссертация «Морфофункциональная организация тетродотоксин-содержащих структур у низкотоксичной гетеронемертины *Kulikovia alborostrata*», выполненная Власенко А.Е., является самостоятельным и законченным научным трудом. Позиция автора научного исследования понятна и обоснована.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационной работы нет, общее небольшое замечание к оформлению таблиц, где не приведены данные по применению статистических методов для сравнения показателей.

При прочтении работы возникли следующие **вопросы:**

1. Какие факторы влияют на значительные различия в содержании тетродотоксина и его производных среди отдельных особей *K. alborostrata*?
2. Почему концентрация токсинов максимальна именно в прецеребральном и ротовом отделах тела животного?
3. Существует ли связь между уровнем накопления токсинов и особенностями физиологии или поведения конкретного организма?
4. Могут ли полученные результаты работы использоваться для понимания механизмов распространения токсинов в экосистемах, включающих *K. alborostrata*, и какой вклад вносят немертины в общую динамику циркуляции токсинов в водных сообществах?

Заключение. Диссертационная работа Власенко Анны Евгеньевны «Морфофункциональная организация тетродотоксин-содержащих структур у низкотоксичной гетеронемертины *Kulikovia alborostrata*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 Клеточная биология, законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной и практической задачи – установление особенностей накопления и экскреции тетродотоксина и его производных в структурах низкотоксичной

гетеронемертины *K. alborostrata*. По актуальности, объёму проведенных исследований, научной новизне и практической значимости представленная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09. 2013 № 842 (ред. от 25.01.2024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор, Власенко Анна Евгеньевна, заслуживает присвоения исомой степени по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки).

Официальный оппонент, д-р биол. наук, доцент, заведующая междисциплинарным научно-исследовательским центром, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии
ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России

Н.Г. Плехова

«08» сентября 2025 г.

Подпись Н. Г. Плехова Н. Г. заверяю
Ученый секретарь ученого совета
ФГБОУ ВО ТГМУ Минзд
д.м.н., профессор Просекова Е. В.

Адрес организации:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Тихоокеанский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России), 690002, Приморский край г. Владивосток, пр-т Острякова, 2. Тел. 8(423) 242-97-78, Email: mail@tgmu.ru, сайт - <https://tgmu.ru/>