

ОТЗЫВ

на работу ШУНЬКИНОЙ Ксении Вячеславовны

«Сравнительная нейроморфология трех видов пресноводных мшанок *Cristatella mucedo*, *Plumatella repens* и *Fredericella sultana* (Bryozoa, Phylactolaemata)»,
представленную для защиты кандидатской диссертации по специальностям

03.02.04 - Зоология

03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация посвящена изучению особенностей и закономерностей общей организации нервной системы и рецепторных элементов пресноводных мшанок.

Диссертация имеет традиционную структуру, состоит из 9 глав, включает Введение, Литературный обзор, Материалы и Методы, Результаты (главы 3-8), Обсуждение, Выводы и Список цитируемой литературы.

Во ВВЕДЕНИИ дается общая характеристика трех классов мшанок Филактолемата, Стенолемата и Гимнолемата (Phylactolaemata, Stenolaemata, Gymnolaemata). Приводятся сведения об их строении, способах размножения, основных структурных различиях. Автор указывает на то, что хотя морфологические особенности мшанок (тип Bryozoa) изучены достаточно подробно, данные о строении нервной системы как морских, так и пресноводных мшанок до настоящего времени остаются отрывочными и разрозненными, в том числе из-за того, что исследователи используют различные методы подготовки материала. Автор подчеркивает, что отсутствие целостного представления о строении нервной системы затрудняет проведение, во-первых, сравнительного анализа внутри группы и, во-вторых, сравнение с другими группами беспозвоночных. Кроме того, автор справедливо указывает на то, что сведения об общем устройстве нервной системы мшанок важны для решения ряда филогенетических проблем, связанных с положением данного типа в пределах подраздела Настоящих многоклеточных животных (Eumetazoa).

Таким образом, проведение настоящей диссертационной работы, а именно, изучение особенностей и закономерностей общей организации нервной системы и рецепторных элементов пресноводных мшанок, является вполне своевременным и актуальным.

Для исследования были удачно выбраны три вида пресноводных мшанок: кристателла, плюмателла и фредерицелла (*Cristatella mucedo*, *Plumatella repens*, *Fredericella sultana*). Эти виды с одной стороны, являются доступными представителями водной фауны европейской части России, а с другой стороны, различаются, как морфологически (по структуре лофофора), так и, главное, по образу жизни - колонии кристателлы (*Cristatella mucedo*) обладают способностью к передвижению.

В конце ВВЕДЕНИЯ автор четко формулирует цель исследования и ставит 5 конкретных задач, которые намечено было выполнить для достижения поставленной цели.

В первом разделе ОБЗОРА ЛИТЕРАТУРЫ (глава 1, часть 1.1) автор дает читателю возможность проследить историю развития взглядов на филогенетическое положение мшанок в системе подцарства Многоклеточных животных (Metazoa).

В следующем разделе ОБЗОРА ЛИТЕРАТУРЫ (часть 1.2) автор обрисовывает общую организацию пресноводных мшанок класса Филактолемата (Phylactolaemata), дает информацию о некоторых реакциях и питании мшанок. Здесь следует отметить, что автор приводит очень интересные данные Маркуса о том, что колонии кристателлы и лофопуса предпочитают затененные места обитания (Marcus, 1924, 1926). Причем, скорость движения колоний по Маркусу зависит от уровня освещения. Эти данные говорят о возможном восприятии света некоторыми видами мшанок. Но каков их механизм – неясно.

В разделе 1.3 ОБЗОРА ЛИТЕРАТУРЫ специально разбираются особенности пищевого поведения пресноводных мшанок. Приводится подробное описание поведенческих реакций полипидов пресноводных мшанок, связанных с питанием (данные Антипенко). Эти реакции носят активный характер и включают «тестирование окружающего пространства» полипидом (лофофором, щупальцами). Что опять-таки интересно с точки зрения исследования изучения сенсорных систем.

В конце этого раздела автор указывает на то, что полипиды реагируют на механическое раздражение — при прикосновении к краю колонии происходит втягивание не одного, а сразу нескольких расположенных рядом полипидов (Антипенко, 1999). Автор заключает, что поведение пресноводных мшанок оказывается довольно сложным процессом, требующим высокой координации движений щупалец в пределах одного полипида, а также синхронизации действий нескольких зооидов в колонии.

В разделе 1.4 ОБЗОРА ЛИТЕРАТУРЫ автор останавливается на истории изучения нервной системы пресноводных мшанок, начиная с работ Дюмотье и ван Бенеден (Dumortier, 1835, van Beneden, 1839), выполненных еще в 19 веке. Далее описываются результаты исследований нервной системы мшанок при помощи прижизненного окрашивания метиленовым синим (Nitsche, 1868; Hyatt, 1866-68; Gerwerzhagen, 1913), с помощью импрегнации серебром, с помощью гистологических методов по срезам. Автор пишет, что к концу 70-х годов 20 века накопленные данные позволили достаточно точно описать строение нервной системы мшанок, что было сделано в работе Женеваевой Люто «Нервная система мшанок» в 1977 г. (Lutaud G, 1977. The bryozoan nervous system).

Специально останавливаясь на рецепторных элементах, автор отмечает, что их наличие у пресноводных мшанок было отмечено еще в первых исследованиях нервной системы. О возможной сенсорной (осязательной) функции щетинок, расположенных на щупальцах упоминается еще в работе Нитше, выполненной в конце 19 века (Nitsche, 1868). В последние десятилетия нашего времени на кончиках щупалец были обнаружены моно- и полицилиарные клетки, несущие реснички, которые выполняют по мнению Шунатовой и Нильсена механорецепторную функцию (Shunatova, Nielsen, 2002). Автор замечает, что косвенно эти данные подтверждаются наблюдениями за живыми полипидами.

Далее автор дает современную картину исследований нервной системы мшанок, выполненных с помощью методики иммуногистохимического окрашивания и конфокальной лазерной микроскопии. Сочетание этих методов позволяет выявлять не только распределение различных нейромедиаторов в нервной системе беспозвоночных, но и рассматривать ее строение в целом. Автор приводит результаты работ, в которых были выявлены серотонин- и нейропептид положительные элементы нервной системы мшанок, в том числе описывает распределения серотонин-иммунореактивных элементов в ганглии и лофофоре пресноводной мшанки фредерицеллы (*Fredericella sultana*). Автор предполагает, что тела нейронов, расположенные в основании щупалец, по всей видимости, участвуют в образовании сенсорных элементов.

Проанализировав обширный литературный материал, автор справедливо заключает, что, во-первых, существующие описания нервной системы мшанок не могут быть использованы для полноценного сравнительного анализа, так как были выполнены в разном объеме и при помощи различных морфологических методик. И, во-вторых, в литературе имеется мало данных о распределении различных нейромедиаторов в нервной системе, что важно для понимания организации нервной системы и сенсорных элементов.

Таким образом, автор на основании проделанного литературного анализа, подводит читателя к необходимости и актуальности выполнения поставленных в диссертации задач.

В Главе 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ автор подробно описывает, как и где проводился сбор материала, подробно описывает методы приготовления и окраски препаратов - гистологические методы, методы флуоресцентного гистохимического и непрямого иммуногистохимического окрашивания. Для исследования ультраструктуры щупалец кристателлы был использован электронный микроскоп и проведена соответствующая подготовка препаратов.

В целом нужно отметить, что использованный комплекс морфологических и иммуногистохимических методов современен и соответствует выполнению поставленных

задач. Проведение большого числа контрольных экспериментов с использованием вторичных антител убеждает в адекватности полученных результатов.

В Главах с 3 по 8 представлены РЕЗУЛЬТАТЫ проведенных исследований трех видов пресноводных мшанок.

В Главе 3 автор на основании собственных и литературных данных подробно описывает морфологические особенности строения исследованных пресноводных мшанок и их колоний. Представлена четкая и ясная схема (рисунок 8) продольного среза зооида пресноводной мшанки, что значительно упрощает дальнейший анализ материала. Среди представленных в этой главе данных хочется выделить 2 особенности описанные автором, которые имеют важное значение для понимания жизни колоний. Во-первых, у некоторых видов пресноводных мшанок целомические полости цистидов отделены неполными септами. А у некоторых пресноводных мшанок (филактолематы) септы отсутствуют вовсе. Поэтому кроме терминальных участков различать цистиды соседних зооидов нельзя, а полипиды оказываются подвешенными в общеколониальном целоме. Во-вторых, колонии кристателлы обладают общеколониальным органом передвижения и прикрепления – подошвой. Это базальная часть колонии, обладающая собственной мускулатурой и нервной системой. По краю подошвы колонии формируется небольшой мускульный валик, который, по всей видимости, выполняет функции прикрепления колонии к субстрату и может работать как присоска.

В следующей Главе 4 дается описание строения нервной системы пресноводных мшанок. Отдельно по подразделам описаны: (4.1) Центральная нервная система, (4.2) Нервная система лофофора, (4.3) Нервная система стенки тела полипида и кишечника, (4.4) Нервная система подошвы на примере кристателлы (*C. mucedo*).

Важно, что автор отмечает как общие черты строения нервной системы у всех трех видов мшанок, так отдельные видовые особенности:

Общим является то, что ЦНС пресноводных мшанок представлена церебральным ганглием и несколькими парами отходящих от него нервных стволов - рогами лофофора и пероральным кольцом (апикально), нервами стенки тела и кишечника (базально) и несколькими радиальными нервами (латерально).

Основные отличия, обнаруженные в строении ЦНС трех исследованных видов, заключаются в сильной редукции рогов лофофора у фредерицеллы (*F. sultana*),

пресноводной мшанки с округлым лофофором, а также различиями в строении перорального нервного кольца.

В следующей Главе 5 дается описание серотонинергической нервной системы у исследованных видов мшанок. Оказалось, что серотонинположительные элементы в нервной системе пресноводных мшанок характерны только для церебрального ганглия и нервных элементов лофофора. Автор приходит к выводу, что, судя по распределению отростков, серотонинергические клетки лофофора – это первичночувствующие клетки с достаточно узкой областью иннервации.

Автор выявила также ряд различий в расположении тел серотонинергических нейронов в лофофоре у исследованных видов мшанок.

В церебральном ганглии аксоноподобные отростки серотонин-иммунореактивных клеток формируют мощный нейропил. Форма серотонинергического нейропиля отличается у исследованных видов.

Глава 6 посвящена исследованию нейропептидергической нервной системы (FMRF-амидергической нервной системы). Полученные автором данные убеждают в том, что у пресноводных мшанок нейропептид-иммунореактивные элементы в нервной системе представлены более широко, чем серотонинергические. Нейропептид-иммунореактивные элементы нервной системы были обнаружены не только в церебральном ганглии и лофофоре, но и во всех исследованных отделах нервной системы мшанок, в том числе и в подошве у кристателлы. Различие в распределении разных медиаторов является, как кажется, принципиально важным фактом и имеет особое значение для понимания функциональной организации нервных элементов.

Автор подробно по видам описывает распределение нейропептид-иммунореактивных элементов в ЦНС (Раздел 6.1), нервной системы лофофора (Раздел 6.2), нервной системы полипида и стенки цистида (Раздел 6.3) и нервной системы кишечника зооидов (Раздел 6.4).

Следует отметить некоторые интересные, по нашему мнению, находки, сделанные автором.

Во-первых, автор обнаружила четкие видовые различия в распределении нейропептид-иммунореактивных клеток в пределах ганглия.

Во-вторых, было найдено, что у кристателлы в церебральном ганглии, как и в случае серотонинергического нейропиля, распределение FMRFамидположительных элементов демонстрирует тенденцию к формированию билатерально симметричных структур. При

этом часть нервных волокон переходит через комиссуроподобную центральную часть нейропиля ганглия в симметричные области противоположной половины ганглия. Автор предполагает, что такое строение обуславливает синхронизацию работы обоих рук лофофора. Действительно, в литературе описаны формы поведения полипидов, когда они совершают синхронные движения руками.

В-третьих, автор обнаружила у кристателлы биполярные клетки, периферические отростки которых заходят в эпителий щупалец и оканчиваются на его апикальной поверхности, не ветвясь. Автор предполагает, что эти биполярные клетки являются первичночувствующими рецепторными клетками. В то же время рецепторных клеток на кончиках щупалец у плюмателлы и фредерицеллы обнаружить не удалось.

Глава 7 посвящена исследованию катехоламинергических элементов нервной системы у кристателлы. Эти элементы были обнаружены в ЦНС, рогах лофофора, щупальцах, эпистоме и стенке тела.

Интересно отметить, что катехоламинергическая иннервация лофофора представлена регулярно расположенными в щупальцах первичночувствующими клетками и их отростками. Их периферические отростки оканчиваются у поверхности щупальца, не ветвясь. Аксоноподобные отростки этих клеток идут в нейропиль церебрального ганглия.

Катехоламинергические рецепторные клетки двух типов были обнаружены также в эпистоме.

Глава 8 посвящена описанию ультраструктуры щупалец кристателлы.

Эпителий щупальца образован несколькими типами клеток: эпителиально-опорными, секреторными и рецепторными.

Эпителиально-опорные клетки снабжены ресничками, имеют длину около 15 мкм и заканчиваются в клетке поперечно исчерченным корешком. В апикальной части эпителиально-опорных клеток было обнаружено множество митохондрий, что, как справедливо замечает автор, свидетельствует о высокой метаболической активности этой зоны опорно-эпителиальных клеток. Эпителиально-опорные клетки в разных областях щупальца различаются по строению.

РК также как и ОК эпителия несут микровиллы и цилии. Их корешковая система принципиально не отличается от опорных клеток. Кроме того, автор нашла, что РК снабжены крупными базальными отростками, содержащими характерные для нервных клеток микротрубочки. Отростки РК образуют базисэпителиальное нервное сплетение и входят в область соответствующих нервов щупалец.

В Главе 9 ОБСУЖДЕНИЕ проводится сравнительный анализ собственных и литературных данных о структуре нервных элементов в церебральном ганглии, лофофоре, щупальцах, стенке цистида и полипида у животных разных видов, классов и типов, а именно у Форонид, Мшанок и Брахиопод.

Хочется остановиться только на некоторых интересных результатах, подробно обсуждаемых в этой части диссертации.

Во-первых, интересно обсуждение рецепторных элементов. Напомню, что автору удалось впервые показать, что в щупальцах кристателлы имеются катехоламинергические и нейропептидергические биполярные первичночувствующие клетки. Автор выявила также биполярные серотонинергические нервные клетки, располагающиеся в основании щупалец у исследованных видов, которые, по-видимому, выполняют проприорецептивную функцию.

В-вторых, в работе впервые была описана иннервация мускулатуры подошвы кристателлы. Полученные данные указывают на наличие хорошо развитой моторной части нервной системы, участвующей в локомоции колонии. Известно, что эта способность колонии используется ею для перемещения в более затененные области. Однако, как указывалось выше, до сих пор неизвестно, какие рецепторные элементы инициируют это движение колонии.

В-третьих, в сравнительном плане интересен вывод автора о том, что по сравнению с форонидами (Phoronoidae) нервная система пресноводных мшанок является более дифференцированной, с хорошо обособленным церебральным ганглием и различающимися по характеру строения отделами. Автору удалось выявить между группами разницу в иннервации интроверта и цистида. Это свидетельствует о том, что более высокая дифференцировка нервной системы присутствует у пресноводных мшанок не только на уровне ЦНС, но и в периферической нервной системе. Автор справедливо заключает, что это, в первую очередь, может быть связано с внутрикониальной интеграцией зооидов. У колоний как морских, так и пресноводных мшанок, удастся описать различные формы группового поведения, связанные как с защитной (синхронное вворачивание соседних полипидов при раздражении одного из них), так и с трофической функцией («передача» пищевых частиц, образование «дымоходов») (Антипенко, 1999; Winston, 1978; Shunatova, Ostrovsky, 2001).

В-четвертых, учитывая многочисленные различия между строением нервной системы мшанок и форонид, диссертантка делает вполне логичный вывод о том, что при рассмотрении вопроса о родстве покрыторотых мшанок и форонид у нас нет оснований для сближения этих двух групп в качестве близкородственных.

Заканчивается содержательная часть диссертации **ВЫВОДАМИ**. Сделанные заключения точны, лаконичны и полностью соответствуют полученному диссертанткой материалу.

Основные материалы диссертации соответствуют автореферату и публикациям диссертанта и отражены в них достаточно полно. В заключение хочется сказать, что в целом работа производит хорошее впечатление, ясно изложена и хорошо проиллюстрирована. Представленные схемы графически ясно отражают результаты исследований и соответствуют фактическому экспериментальному материалу.

Диссертация К.В. Шунькиной полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Ксения Вячеславовна Шунькина заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.04 – зоология и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Ведущий научный сотрудник

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института
эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Доктор биологических наук



Д.В. Лычаков

10 марта 2015 г.

Подпись руки
удостоверяю
зав.канцелярией
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук

Лычаков Д.В.
10.03.2015

