

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Бредова Дениса Владимировича
на тему: «Влияние механической силы на клеточные перегруппировки в
гастрюляции амфибии *Xenopus laevis* » по специальности

1.5.23 – Биология развития, эмбриология

Тематика представленной диссертации относится к области морфодинамики – области биологии развития, которая исследует роль механических напряжений в регуляции раннего развития животных, и также предполагает их ведущую роль в самоорганизации живых систем. Данная область имеет не только фундаментальное значение для понимания общих законов развития, а также крайне важна для прикладных исследований тканевой инженерии и регенерационной медицины. Работа успешно продолжает направление исследований, начатых много лет назад на кафедре эмбриологии пионерскими работами профессора Льва Владимировича Белоусова и, по существу, обозначившие момент зарождения данной области науки. Работы, приведшие к обнаружению закономерного пространственно-временного распределения механических напряжений (полей механических напряжений) при развитии зародышей позвоночных, показавшие влияние релаксации и переориентации полей механических напряжений на морфогенез, а также выявившие клеточные механизмы генерации механических напряжений и, в конце концов, открывшие механо-зависимые гены. И наш сегодняшний соискатель, став последним аспирантом Льва Владимировича, продолжает развитие данного направления.

За последние годы стало очевидным, что эндогенные механические напряжения (МН), возникающие в тканях зародыша, играют важную роль в поддержании формы клеток, регуляции их подвижности, везикулярного

транспорта в них, в перестройке клеточных контактов, а искусственно приложенные механические силы могут влиять через эти механизмы на морфогенетические процессы. В связи с этим, работа Бредова Дениса Владимировича на тему: «Влияние механической силы на клеточные перегруппировки в гастрюляции амфибии *Xenopus laevis*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, направлена на решение некоторых вопросов механобиологии, что несомненно, делает ее актуальной в плане разработки фундаментальных проблем биологии развития.

Представленная работа (97 машинописных страниц) написана по стандартной схеме, включающей разделы: Введение (7 стр.), Обзор литературы (23 стр.), Материал и методы (11 стр.), Результаты (31 стр.), Обсуждение (4 стр.), Заключение (3 стр.), Выводы (1 стр.), Благодарности (1стр.) и Список литературы (8 стр.). Работа содержит 22 рисунка, 8 таблиц. Список литературы содержит 84 работы, из которых 6 на русском языке. В списке литературы авторы представлены по алфавиту сначала иностранные, а только потом – русские.

Во «Введении» рассмотрены: актуальность темы исследования, степень разработанности темы, цель и задачи исследования, объект и предмет исследования, научная новизна работы, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, достоверность, апробация работы, публикации, личный вклад автора в проведение исследования, положения, выносимые на защиту.

В «Обзоре литературы» рассмотрены 3 основные направления: регистрация механических сил в раннем развитии, роль механических сил в регуляции движений клеток, цитологические и молекулярные механизмы реакции клеток на механические силы. Представленный обзор достаточно полно отражает как историю вопроса, так и современное состояние проблемы.

В разделе «материала и методы» автор приводит как общепринятые методы работы с эмбриональным объектом, окрашивание на F-актин, методы статистической обработки данных, так и разработанные самим автором (способ искусственной деформации тканевых эксплантатов, способ визуализации ядер и клеточных границ эксплантата, способы морфометрического анализа и др.). Именно эти оригинальные разделы дают представления о том, насколько скрупулезная и объемная работа проделана диссертантом для выполнения поставленных задач. Это позволило, пожалуй, впервые применить объективно дозированное силовое воздействие на ткани, ставшее возможным благодаря разработке диссертантом специальной установки. Это касается не только механики установки, но и отработки способа надежной передачи механического усилия тканевому эксплантату при одновременной возможности объективной регистрации клеточных перегруппировок с использованием конфокальной микроскопии. Все это не только разработано, проверено в экспериментах на эмбриональной модели, но и защищено патентом. Учитывая значимость проделанной работы, автор оправданно выносит подробное описание установки в соответствующий раздел «Результатов».

Начинается раздел «Результаты» с анализа пространственно-временной динамики морфогенетических движений и частоты перегруппировок клеток в регионах интактной гастролы ксенопуса, качественно различающихся по величине механических напряжений (крыша бластоцеля и супрбластопоральная область), по результатам цейтраферной конфокальной съемки. Для маркирования клеточных границ проводили инъекцию мРНК мембранного (GAP43-GFP) и ядерного (H2B-mCherry) маркеров в эмбрионы на стадиях 2-х – 4-х бластомеров. В качестве маркера перегруппировок автор выделяет и в дальнейшем анализирует число образования клеточных розеток

- определенных перегруппировок клеток, приводящих к появлению общей точки контакта не менее 5 клеток.

Примененные автором методы, позволили ему получить результаты, представленные в соответствующей главе, по влиянию внешней механической силы на клеточные перегруппировки в тканях гастрюлы амфибии *Xenopus laevis*. Статистически достоверные результаты автора показали, что как скорость и направленность смещения клеток, так и количество микродеформаций статистически выше в наиболее латеральной части супрабластопоральной области, что указывает на большее растягивающие усилия в этом районе.

Далее в разделе представлены данные экспериментальной проверки ответа клеточных пластов, эксплантированных из соответствующих областей гастрюлы на дозированное механическое напряжение с использованием разработанной установки.

Помимо отмеченных автором закономерностей морфометрических перестроек в эксплантатах, мне показалось интересным отмеченная стабилизация клеточного ответа на применение внешнего силового воздействия – значения минимума образования розеток повышалось, а максимума снижалось в подверженных растяжению эксплантатах по сравнению с «не тянутыми». В связи с этим, у меня возник вопрос к диссертанту: на чем основывается использование только определенных типов клеточных розеток при определении частоты перегруппировок клеток? И что получится, если наоборот, использовать розетки, образованные, например, только митозом? Ведь они также участвуют в перераспределении силовых нагрузок в ткани?

Краткое, но емкое обсуждение завершает диссертацию. Представленные выводы отражают результаты проделанной работы и соответствуют поставленным задачам. Адекватные методы статистической обработки свидетельствуют о достоверности полученных результатов.

В целом работа производит впечатление хорошо продуманного и тщательно выполненного исследования с аккуратно сделанными выводами.

Тем не менее, работа не лишена определенных недостатков в оформлении.

Работа недостаточно выверена, встречаются многочисленные ошибки в пунктуации, неудачные выражения.

При упоминании в тексте авторов работ принято указывать не только фамилию, но и инициалы автора. Тем более, когда речь идет о Льве Владимировиче Белоусове – режет глаз.

В автореферате и в диссертации отсутствуют данные об общем числе проведенных экспериментов, в том числе, проведенных при отработке отдельных методических приемов и способов регистрации клеточных перегруппировок.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.23 – «Биология развития, эмбриология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель **Бредов Денис Владимирович** заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.23 – «Биология развития, эмбриология».

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры ихтиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Бурлаков Александр Борисович

Контактные данные:

Тел.:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.00.10 – ихтиология; 03.00.30 – биология развития, эмбриология

Адрес места работы:

119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12.

МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет,
кафедра ихтиологии.

Тел.: +7(495) 939-25-38, e-mail: burlakovao@mail.ru

Подпись сотрудника биологического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова Бурлакова А.Б. удостоверяю:
ученый секретарь Ученого совета биологического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова
Петрова Е.В.