

Отзыв официального оппонента

на диссертацию **Никитенко Екатерины Дмитриевны**

«Тонкая морфология, развитие и регенерация спикульного комплекса

Onchidoris muricata (Doridina, Nudibranchia, Mollusca)»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.12. Зоология

Диссертация Е.Д. Никитенко посвящена изучению тонкой морфологии, развития и регенерации спикул у голожаберного моллюска *Onchidoris muricata*. Этот вид, как и другие представители Doridina, обладают уникальной системой внутриклеточных спикул, расположенных под покровным эпителием в соединительно-тканном слое. Такое положение и внутриклеточное формирование спикул отличает спикулы дорид от спикул и раковин остальных беспозвоночных животных. Вопросы биоминерализации и формирования скелетных структур беспозвоночных представляют собой актуальное направление современной биологии, имеющее не только фундаментальное, но и прикладное значение. В отличие от хорошо изученных внеклеточных скелетных структур, формируемых беспозвоночными, субэпидермальные внутриклеточные спикулы остаются малоизученным явлением. Данная работа восполняет этот пробел, представляя комплексное исследование формирования, роста, химического состава и молекулярных механизмов минерализации спикул в нормальном онтогенезе и в процессе репаративной регенерации.

Автор провел всесторонний анализ морфологии покровов *O. muricata*, впервые описал динамику их онтогенетического преобразования и проследил процесс формирования спикул на всех стадиях развития. Важным ре-

результатом является выявление особых клеток, названных автором Икс-клетками, которые, вероятно, являются предшественниками склероцитов, клеток формирующих спикулы. Это открытие проливает свет на вопрос о механизме образования данных структур и имеет значение для понимания эволюции скелетных образований у беспозвоночных. Существенным достижением также является изучение химического состава спикул с применением методов энергодисперсионного анализа и Рамановской спектроскопии, что позволило подтвердить их кальцитовую природу и выявить закономерности распределения минеральных и органических компонентов в процессе роста.

Особое внимание в диссертации уделено регенеративным возможностям *O. muricata* – впервые продемонстрировано восстановление ринофоров вместе с их спикулами, что доказывает способность к *de novo* спикулогенезу у взрослых особей. Этот аспект работы представляет особый интерес, поскольку данные о регенерации скелетных структур у беспозвоночных крайне ограничены. Автором детально описан процесс регенерации ринофоров, показано, что в ходе восстановления происходит повторение онтогенетического пути формирования спикул, что подтверждается на морфологическом и молекулярном уровнях.

Диссертация логично структурирована, непосредственно текст работы изложен на 80 страницах, остальные 102 страницы включают приложения и рисунки – 7 таблиц и 75 рисунков. Текст подразделяется на традиционные главы: введение, обзор литературы, описание материала и методов исследования, результаты, обсуждение, заключение и выводы. В первой главе автор обосновывает актуальность темы, формулирует цели и задачи, раскрывает научную новизну работы и ее теоретическую и практическую значимость. Научная новизна представленных исследований несомненна: впервые детально изучена морфология склероцитов, показано, что спику-

лы на всех стадиях онтогенеза располагаются внутриклеточно, впервые исследована экспрессия карбоангидраз в контексте минерализации спикул, а также выявлены особенности их формирования при регенерации. Степень достоверности результатов подтверждается применением широкого спектра современных методов, включая световую, сканирующую и трансмиссионную электронную микроскопию, иммуногистохимию, компьютерную микротомографию и методы молекулярной биологии.

Во второй главе представлен детальный обзор литературы, в котором рассматриваются вопросы биоминерализации у беспозвоночных, разнообразие спикул у моллюсков и других групп животных, а также механизмы регенерации скелетных структур.

В третьей главе подробно изложены материалы и методы исследования. В работе использованы современные методы морфологии, гистологии, молекулярной биологии и биофизики. Объем экспериментального материала впечатляет: изучено более 900 особей *O. muricata*, исследованы все стадии онтогенеза от ювенильных форм до половозрелых особей. Методическая проработка заслуживает высокой оценки, поскольку в диссертации использован мультидисциплинарный подход, позволяющий оценить изучаемые процессы с разных сторон.

Основные результаты представлены в четвертой главе, где автор подробно описывает процессы формирования и преобразования спикул, включая их химический состав, ультраструктурную организацию и минерализацию. Впервые показано, что внутренняя структура спикул изменяется в процессе онтогенеза: у ювенильных особей они имеют полую или рыхлую структуру, у взрослых – монолитную. Анализ молекулярных механизмов минерализации выявил экспрессию карбоангидразы в склероцитах, что позволяет сделать вывод о ее роли в кальцификации спикул. Раздел, посвящен-

ный регенерации, демонстрирует способность моллюска к полному восстановлению ринофоров, включая их спикульный комплекс, что ранее не было известно.

В обсуждении результатов проведен детальный сравнительный анализ полученных данных с имеющимися в литературе сведениями о формировании скелетных структур у беспозвоночных. Автор обоснованно сравнивает механизмы минерализации у голожаберных моллюсков, губок, иглокожих и других животных, делая вывод о наличии общих принципов биоминерализации. Вывод о сходстве процессов кальцификации спикул и формирования экзоскелета иглокожих представляется интересным и заслуживает дальнейшего изучения.

Закключение и выводы полностью соответствуют поставленным в начале работы целям и задачам. Основные положения, выносимые на защиту, полностью обоснованы. В диссертации представлено оригинальное исследование, существенно расширяющее представления о формировании и регенерации внутриклеточных скелетных структур у беспозвоночных. В целом работа выполнена на высоком научном уровне и производит крайне благоприятное впечатление. Хочу особо отметить комплексный подход к изучению онтогенетической динамики и восстановлению спикульного комплекса, включающий весь спектр морфологических и молекулярных методов, в том числе метод гибридизации *in situ*, что позволило сформулировать гипотезу о способе формирования и минерализации кальцитовых спикул у голожаберных моллюсков. Отдельной крайне высокой оценки заслуживает отличное качество иллюстративного материала, имеющего принципиальное значение в зоологических работах.

По работе возникло несколько замечаний и вопросов.

На основании каких критериев был осуществлен выбор гена карбоангидразы для данного исследования? Являются ли выявленные гены карбоангидразы универсальными и характерными для формирования различных минеральных структур у беспозвоночных?

При довольно детальном изучении регенерации на морфологическом уровне Екатерина Дмитриевна, тем не менее, не затронула важные процессы апоптоза и пролиферации, которые можно было выявить методами иммуоцитохимии. Это несколько выходит за рамки основной цели работы, но внесло бы больше ясности в процесс регенерации.

В тексте также встречаются некоторые неточности, такие как непоследовательное введение терминов, редкие орфографические ошибки и незначительные ошибки в оформлении ссылок на рисунки.

Автореферат полностью отражает основные положения работы и ее ключевые результаты. Представленные в нем данные четко изложены и соответствуют содержанию диссертации. Важным достоинством является высокая степень апробации работы – результаты были представлены на 17 конференциях и опубликованы в шести рецензируемых научных журналах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.12. Зоология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова». Диссертационная работа оформлена согласно требованиям «Положения о совете по защите дис-

сертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова».

Таким образом, соискатель **Никитенко Екатерины Дмитриевны** заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12. Зоология.

Официальный оппонент:

Кантор Юрий Израилевич, д.б.н., ведущий научный сотрудник

ФГБУ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской Академии наук

Россия, 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33

Контактные данные:

Телефон: +

Электронная почта: k

Дата отзыва

04.03.2025

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.00.08 – «Зоология»