

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Фроловой Вероники Сергеевны
на тему: «Морфофункциональная организация серотонинергической
системы в ооцитах и ранних эмбрионах мыши»
по специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология

Актуальность работы

Диссертационная работа посвящена важной научной проблеме – изучению структурной и функциональной организации серотонина, рецепторов и транспортеров серотонина, а также ферментов синтеза и деградации серотонина в ооцитах и доимплантационных стадиях развития мыши. Данная работа представляет собой актуальное исследование, касающееся влияние серотонина и серотониновой системы на раннее эмбриональное развитие млекопитающих.

Серотонин - собой классический нейротрансмиттер, эффекты которого широко изучаются в нервной системе млекопитающих. Среди функций серотонина выделяют: регуляцию чувства голода, полового поведения и возбуждения, модуляцию эмоционального фона и тревожных состояний, гормональную регуляцию и многие другие эффекты. Нарушение регуляции уровня серотонина и работы ряда серотониновых рецепторов вовлечены в развитие некоторых психических и нейродегенеративных заболеваний. Однако, несмотря на широту представленных исследований о серотонине в работе центральной нервной системы, большая часть данного нейротрансмиттера представлена за пределами нервной системы: синтез серотонина происходит в кишечнике, и далее свободный серотонин способствует регуляции дыхательной, кровеносной, иммунной, репродуктивной и ряда других систем органов. Таким образом, изучение эффектов серотонина за пределами нервной системы позволяет продвинуться в понимании эффектов данной регуляторной молекулы как модулятора так

называемых донервных событий. Одним из таких актуальных исследований стала диссертационная работа Вероники Сергеевны Фроловой, которая сконцентрирована на участии серотониновой системы в процессах оогенеза и доимплантационного развития мыши.

В результате проведенных исследований и анализа полученных данных, автор показала, что уже на этапе оогенеза присутствует серотонин, его внутриклеточный транспортер и 5 серотониновых рецепторов, которые обнаруживаются также в эмбрионах после оплодотворения и до момента имплантации в стенку матки. Кроме того, в данной работе особое внимание уделяется синтезу серотонина, его деградации и эффектам серотонина как межклеточного коммуникатора.

Достоверность и новизна результатов

Автором данной диссертационной работы впервые описаны типы серотониновых рецепторов, которые обнаруживаются в оогенезе и раннем эмбриогенезе млекопитающих. Также автором проведен ряд экспериментов с фармакологической блокадой компонентов серотонинергической системы, в результате которых удалось показать, что внутриклеточным переносчиком серотонина в эмбриональном развитии являются везикулы транспортера VMAT2, а деградация серотонина осуществляется ферментом моноаминоксидазой А, что позволяет проводить сравнения между функционированием серотонинергической системы в нервных и эмбриональных клетках.

Абсолютно новаторским результатом является демонстрация автором эндогенного синтеза серотонина эмбрионом, что заставляет пересмотреть современную концепцию об исключительно экзогенном происхождении серотонина в развивающемся эмбрионе. Вероника Сергеевна Фролова описывает развивающуюся бластоцисту как вполне автономную систему, которая способна адаптироваться к меняющимся условиям микроокружения и своевременно реагировать на возникающие в процессе развития дефициты и профициты серотонина.

При изучении влияния повышения внутриклеточного содержания серотонина Вероникой Сергеевной также было продемонстрировано, что такие параметры, как генерация активных форм кислорода, митохондриальная активность, экспрессия маркеров плюрипотентности и спецификации клеточных типов бластоцисты, а также возможность имплантации неизменны, что особенно актуально с практической точки зрения. На данный момент возрастает употребление антидепрессантов классов селективных ингибиторов обратного захвата серотонина и ингибиторов моноамиоксидазы женщинами репродуктивного возраста, что позволяет в некоторой степени пересмотреть существующие стандарты медицинской помощи, а также дает задел для более детального изучения представленных в работе препаратов на репродуктивное здоровье.

Еще одним новым результатом данной работы является демонстрация эффекта серотонилирования гистона H3 в результате повышения концентрации серотонина внутри эмбриона. И, несмотря на то, что более конкретные эффекты данного явления в работе не демонстрируются, автор предполагает, что подобное эпигенетическое мечение может иметь отсроченные эффекты в развивающемся зародыше.

В рамках данного диссертационного исследования автор применяет широкий спектр методологических подходов: получение датированной беременности, иммуоцитохимия, ПЦР в реальном времени, вестерн-блоттинг, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, высокоэффективная жидкостная хроматография. Все эксперименты представлены в нескольких повторностях, характеризуются адекватным подбором контрольных групп, присутствует статистический анализ, что позволяет не сомневаться в достоверности представленных результатов.

Теоретическая значимость

Работа Фроловой Вероники Сергеевны носит фундаментальный характер и существенно расширяет современные представления о донервных функциях серотонина. Используя такую модель как бластоциста, автор

представляет серотонин как молекулу, обеспечивающую межклеточный сигналинг уже на ранних этапах развития, и формирующую полноценную систему из рецепторов, транспортеров и ферментов синтеза и деградации, позволяющую модулировать этот сигналинг. Кроме того, благодаря такому подробному описанию происходящих процессов серотониновой коммуникации в эмбрионе Вероника Сергеевна Фролова демонстрирует бластоцисту как автономную структуру, способную самостоятельно переключать свои внутренние метаболические процессы с целью обеспечения выживаемости. Таким образом, результаты данной работы открывают новые горизонты в исследовании механизмов, лежащих в основе серотониновой регуляции эмбриогенеза.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту, и ВЫВОДОВ

Обоснованность положений, выносимых на защиту, а также выводов диссертационного исследования Вероники Сергеевны Фроловой основаны на детальном анализе литературных данных, четкой постановке цели и задач исследования, применении современных методов морфологического и молекулярного описания полученных результатов, детальном обсуждении полученных результатов и сравнения их с имеющимися в научной литературе данными. Материалы диссертационной работы опубликованы в четырех рецензируемых научных изданиях, представлены на российских и международных конференциях, что соответствует требованиям, предъявляемым Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к кандидатским диссертациям.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Вероники Сергеевны Фроловой построена по традиционной схеме, изложена достаточно подробно и последовательно. В тексте диссертационного исследования присутствуют следующие разделы: список сокращений и условных обозначений, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список

используемой литературы и благодарности. Во введении подробно обсуждается актуальность исследования, научная и практическая значимость полученных результатов, формулируются цели и задачи. В обзоре литературы представлены общие данные о нейротрансмиттерах, а также исследования об участии и влиянии нейротрансмиттеров на эмбриональное развитие и гаметогенез как позвоночных, так и беспозвоночных животных. Примечательно, что в обзоре литературы автор ссылается как на классические исследования второй половины XX века, так и на более современные исследования, проведенные в течение последних 5 лет.

Материалы и методы включают в себя описание всех проведенных экспериментов с приведением детальных схем, а также две таблицы с использованными антителами и последовательностями генов для проведения ПЦР в реальном времени. Среди методов, используемых в диссертации, описаны: иммуногистохимия, витальное флуоресцентное окрашивание, ПЦР в реальном времени, вестерн-блоттинг, культивирование ооцитов и эмбрионов в условиях фармакологического воздействия. Также автор указывает размеры выборок для каждого эксперимента и критерии, которые применялись для статистического анализа.

Результаты изложены достаточно подробно, изобилуют изображениями и графиками, описания рисунков подробные, все данные приведены корректно. Обсуждение обширное, разделено на несколько подразделов, однако последовательность разделов обсуждения несколько не соответствует последовательности изложенных результатов.

Заключение и выводы сформулированы кратко, но в полной мере соответствуют поставленным целям и задачам диссертационного исследования. Список литературы включает в себя 280 источников, из которых 9 опубликованы в российских изданиях и 271 – в зарубежных.

Текст диссертации изложен на 143 страницах машинописного текста, содержит 29 изображений и 3 таблицы, оформлен в соответствии с ГОСТ и в

полной мере соответствует правилам, предъявляемым к работам подобного рода.

Вопросы и замечания

При ознакомлении с данной диссертационной работой возникли следующие вопросы, пожелания и замечания:

- 1) В литературном обзоре приводятся исчерпывающие данные об описанных эффектах применения различных психотропных препаратов, однако практически не уделяется внимание механизму действия того или иного препарата.
- 2) В работе в качестве блокатора моноамиоксидазы используется такое вещество как паргилин для блокирования работы моноаминоксидазы А, однако паргилин не является селективным ингибитором для этого фермента. Почему был выбран именно данный препарат?
- 3) В работе упоминается, что в качестве вещества, снижающего количество внутриклеточного серотонина, использовался флуоксетин, однако был достигнут противоположный эффект: при пероральном приеме флуоксетина матерью эмбрионы показали не снижение детектируемого внутриклеточного серотонина, а его повышение по сравнению с контрольной группой. Предполагается ли в дальнейшем продолжить эксперименты, чтобы добиться снижения уровня серотонина именно у эмбрионов, и если да, то каким способом это предполагается сделать?

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. Диссертационное исследование

оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Фролова Вероника Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология.

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,

Ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов редокс-регуляции клеточных процессов Института биофизики клетки Российской Академии наук (ИБК РАН) - обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН)

Крещенко Наталья Дмитриевна

31 июля 2026 года

Контактные данные:

тел.: +79153562952, e-mail: nkreshch@rambler.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.00.11 - эмбриология, гистология и цитология

Адрес места работы:

142290, Московская обл., г. Серпухов, г. Пущино, ул. Институтская, 3

ИБК РАН, лаборатория механизмов редокс-регуляции клеточных процессов

Тел.: +7(4967) 73-94-09; e-mail: nkreshch@rambler.ru

Подпись сотрудника ИБК РАН Н.Д. Крещенко удостоверяю:

Ученый секретарь ИБК РАН,
кбн Шавкунов К.С.