

**ОТЗЫВ
ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

на диссертацию **Ревитцер Аллы Вафаевны**
**«Модификация фрактального подхода для анализа перестроек цитоскелета
на примере фибриллярного актина»,**
представленную к защите на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
1.5.2 – «Биофизика»

Способность к движению является одним из основных свойств животных клеток. Движение клеток лежит в основе таких процессов, как формирование различных органов в эмбриогенезе, заживление ран и развитие воспалительных процессов. Давно показано, что в основе движения клеток лежат перестройки цитоскелета, в частности актинового цитоскелета.

Актиновый цитоскелет необходим для подвижности и миграции всех типов клеток; следовательно, он играет решающую роль в способности тканей к регенерации. Мезенхимные стволовые клетки интенсивно используются в регенеративной медицине, но обычно относительно низкий процент стволовых клеток достигает места повреждения. Для усиления миграционного потенциала мезенхимных стволовых клеток используется обработка стволовых клеток биологически активными соединениями, вызывающими реорганизацию актинового цитоскелета. Одним из методов количественного описания перестроек цитоскелета является оценка фрактальной размерности. Метод удобен, но в настоящее время он не получил широкого распространения. В качестве перспективного инструмента количественной оценки перестроек актинового цитоскелета могут быть предложены и использованы новые модификации метода вычисления фрактальной размерности Минковского.

В связи с этим, диссертация **Аллы Вафаевны Ревитцер**, посвященная разработке и апробации модифицированного метода вычисления фрактальной

размерности Минковского для анализа фибриллярного актина мезенхимных стволовых клеток, используемых в регенеративной медицине для лечения различных заболеваний, является в высокой степени **новой и актуальной**.

Диссертационная работа **А.В. Ревитцер** построена по традиционному плану, состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение), заключения, выводов, списка цитируемой литературы, содержащего 97 публикаций. Работа изложена на 132 страницах, иллюстрирована 42 рисунками, содержит 8 формул. Диссертация написана четко, логично, с интересом читается, хорошо оформлена.

Во введении автор обосновал актуальность работы, сформулировал цель и задачи исследования, основные положения, выносимые на защиту, научную новизну работы, ее теоретическую и практическую значимость. Введение также содержит информацию об апробации основных результатов исследования и публикациях по теме диссертации.

В разделе «**Обзор литературы**» (Глава 1) проведен анализ самых последних данных литературы по исследуемой проблеме. Подробно описаны: объект исследования - мезенхимные стволовые клетки, разнообразие их типов, организация актинового цитоскелета и его роль в миграции клеток, а также современные цифровые подходы для оценки перестроек актинового цитоскелета. Особый интерес и новизну имеют разделы 1.4 и 1.5, в которых детально описаны новые данные об использовании мезенхимных стволовых клеток в регенеративной медицине. Возможно, в конце обзора литературы целесообразно было бы ввести общее заключение и еще раз сформулировать цель и задачи работы. В целом, обзор оставляет приятное впечатление. Изложение материала проведено на высоком теоретическом уровне и свидетельствует о широкой эрудиции автора.

Важность и достоверность получаемых результатов в любой экспериментальной работе зависит прежде всего от адекватности и корректности применения методических подходов. Работа **А.В. Ревитцер** выполнена на высоком методическом уровне, с использованием широкого спектра современных методов клеточной биологии, молекулярной биологии и биофизики клетки, адекватных поставленным задачам. В разделе “**Материалы и методы**” (Глава 2) детально описаны: выделение мезенхимных стволовых клеток из жировой ткани, культивирование клеток, направленная дифференцировка, выделение РНК, ОТ-ПЦР, ПЦР в реальном времени, иммунофлуоресценция, гистохимические окраски, микроскопия (оптическая, флуоресцентная широкопольная, конфокальная), цейтраферная съемка с помощью флуоресцентного микроскопа, метод заживления раны. Разработан метод вычисления фрактальной размерности Минковского для характеристики реорганизации актинового цитоскелета мезенхимных стволовых клеток при действии биологически активных соединений, отражающий биофизическую составляющую исследования.

В **Главе 3** представлены полученные **Аллой Вафаевой** экспериментальные данные, которые несомненно являются **новыми**. Автором **впервые** разработан и апробирован модифицированный метод вычисления фрактальной размерности Минковского для анализа фибриллярного актина мезенхимных стволовых клеток, основанный на учете размера и положения клеточного ядра. Применение модифицированного метода позволило автору достоверно количественно оценить степень деполимеризации актина на примере мезенхимных стволовых клеток человека (дермальные фибробласты линии FRSN) при обработке деполимеризатором актина латрункулином Б. Модифицированный метод вычисления фрактальной размерности Минковского позволил также **впервые** установить модуляторное, дозо-зависимое влияние предсердного натрийуретического пептида на организацию актинового цитоскелета и миграцию мезенхимных стволовых клеток человека и крысы,

экспрессирующих рецепторы к предсердному натрийуретическому пептиду. Полученные автором **результаты обоснованы и достоверны.**

Глава 4 диссертационной работы посвящена **общему обсуждению** полученных результатов. Автор критически и на высоком теоретическом уровне анализирует собственные экспериментальные данные и сопоставляет их с данными литературы.

Раздел **«Заключение»** представляет собой краткое обобщение результатов исследования.

Выводы сформулированы автором четко и **обоснованно** и соответствуют поставленным задачам.

Автореферат (23 страницы) полностью отражает содержание диссертационной работы.

Диссертация **А.В. Ревитцер** имеет несомненное **теоретическое и практическое** значение для биофизики, клеточной биологии, физиологии и медицины. **Теоретическая значимость** состоит в разработке модифицированного метода вычисления фрактальной размерности Минковского для описания структуры фибриллярного актина клеток, позволяющего автоматизировать процесс подбора параметров для вычисления фрактальной размерности Минковского. **Практическую значимость** имеют полученные автором **новые** данные о модулирующем влиянии предсердного натрийуретического пептида на миграцию мезенхимных стволовых клеток, выделенных из периренального жира крысы, и мезенхимных стволовых клеток, выделенных из костного мозга 5-6 недельного эмбриона человека. Результаты указывают также на возможность применения предсердного натрийуретического пептида в регенеративной медицине для усиления миграционного потенциала мезенхимных стволовых клеток и преодоления проблемы достижения мезенхимными стволовыми клетками участков повреждения тканей и их заживления.

Основные результаты и выводы диссертации отражены в 10 печатных работах (четыре статьи в рецензируемых журналах и шести тезисах докладов на конференциях); их можно рекомендовать для использования в работе биологических и медицинских факультетов ряда университетов, в частности в Санкт-Петербургском государственном университете, Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова, Санкт-Петербургском политехническом университете Петра Великого, Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН, Институте цитологии РАН, Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете имени академика И. П. Павлова, Национальном медицинском исследовательском центре имени В.А. Алмазова, а также в учебном процессе соответствующих вузов.

В порядке дискуссии хотелось бы узнать мнение автора по следующим вопросам:

1. Автором разработан и апробирован модифицированный метод вычисления фрактальной размерности Минковского для анализа перестроек фибриллярного актина мезенхимных стволовых клеток. Можно ли применять разработанный подход к оценке других видов клеток и их структур?

2. Возможно ли вычисление фрактальной размерности Минковского с помощью неквадратных ячеек сетки?

3. Какими параметрами должны обладать клетки чтобы на них можно было использовать разработанный подход?

В целом, диссертация **А.В. Ревитцер**, выполненная на высоком научном и методическом уровне, заслуживает высокой оценки, в ходе ее выполнения получены **новые** данные по **актуальной** проблеме. Являясь законченным исследованием, работа при этом раскрывает большие перспективы для дальнейшего развития.

Заключение. По актуальности, новизне, теоретической и практической

значимости, объему проведенных исследований диссертация **Ревитцер Аллы Вафаевны** на тему «**Модификация фрактального подхода для анализа перестроек цитоскелета на примере фибриллярного актина**», удовлетворяет требованиям, установленным в п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО СПбПУ» (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, поскольку является научно-квалификационной работой, в которой разработан и апробирован модифицированный метод вычисления фрактальной размерности Минковского для анализа перестроек фибриллярного актина, а ее автор, **Ревитцер Алла Вафаевна**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 - Биофизика.

Официальный оппонент,

Профессор с возложением
обязанностей
Заведующего кафедрой
биофизики, профессор,
доктор биологических наук по
специальности 1.5.2 – биофизика



**Крутецкая
Зоя
Иринарховна**

29.08.2023

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9
Сайт биологического факультета университета: <http://bio.spbu.ru/>
тел.: (812) 328-94-65
e-mail: z.krutetskaya@spbu.ru

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ
Крутецкой З. И.
ЗАВЕРЯЮ



Заместитель начальника
Управления кадров СПбГУ
Н. К. Корельская

29.08.23