

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Бобровской Надежды Владимировны

«Механизмы аутономии и регенерации пищеварительной системы у морской лилии *Himerometra robustipinna*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.05 – биология развития, эмбриология.

Важной экспериментальной моделью для познания клеточных и молекулярных механизмов развития являются процессы реактивации развития, наблюдаемые в ходе различных восстановительных морфогенезов. И тема, выбранная для диссертации Надежды Владимировны, несомненно, актуальна, поскольку затрагивает проблемы формирования различных тканей, органов и структур *de novo*, т.е. проблемы, которые в настоящее время привлекают внимание многих ученых и имеют большое практическое и теоретическое значение. Известно, что формирование структур заново часто происходит естественным путем в ходе репаративной регенерации и бесполого размножения, однако способность к восстановлению утраченных структур у близкородственных видов или даже у одного и того же индивидуума на разных этапах его онтогенеза может существенно отличаться. Очевидно, что решение вопросов постоянства клеточной судьбы, механизмов активации и/или блокирования потенциалов к регенерации требует детальных исследований различных модельных объектов. Особый в этой связи интерес, безусловно, представляют виды, способные к аутономии органов и частей тела. Поскольку морские лилии, вероятно, самые древние среди представителей иглокожих и обладают разнообразными восстановительными реакциями, описания которых зачастую проводились исключительно на макроанатомическом уровне, задача исследовать именно механизмы отделения определенных тканей и их регенерации представляется еще более важной и актуальной.

Объем и структура представленной работы отвечают всем требованиям, предъявляемым к диссертациям соответствующего уровня. Диссертация изложена на 118 страницах и построена по традиционному плану: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список литературы. Диссертация проиллюстрирована многочисленными схемами, рисунками и электронограммами. Список литературы состоит из 220 наименований, из них 188 на иностранных языках.

Во Введении четко, ясно формулируется и вполне убедительно обрисована актуальность научной проблемы, цели и задачи исследования, а также научная новизна, теоретическое и практическое значение работы.

В Обзоре литературы дается определение аутомии, подробно рассматриваются известные примеры аутомии среди животных различных типов рассматриваются вероятные механизмы этого процесса. Отдельный большой раздел посвящен общим и частным вопросам регенерации, в том числе и в отношении иглокожих. Обширные сведения приведены по процессам аутомии и регенерации у морских лилий. В частности, дается общее описание анатомического строения криноидей, особенностей их скелета, крепления и сочленения его отдельных частей. Здесь мы найдем подробные сведения о составе лигаментов и висцеральной массы, о структуре пищеварительной системы и специфики нервной системы. Описание объекта исследований, известные данные о процессах регенерации и аутомии у морских лилий – все это вводит читателя в суть проблемы. Следует отметить, что цитируется как классическая литература, так и самая современная; мировая литература по теме диссертации освещена полно. Обзор литературы дает достаточную и, в ряде случаев, исчерпывающую информацию, позволяющую в сравнительном аспекте понять, что проблема аутомии и восстановления внутренних органов у морских лилий требует специальных дополнительных исследований. Использование в качестве модельного объекта широко распространенной в Азиатско-Тихоокеанском регионе морской лилии *Himerometra robustipinna* обосновано.

В главе Материалы и методы приводится описание использованного автором набора традиционных, но высокоразрешающих методов: трансмиссионная и сканирующая электронная микроскопия. Значительная часть материала подвергалась манипуляциям, приводящим к отделению висцеральной массы от чашечки. Для анализа макроанатомического строения и тканевой организации анализируемых участков тела были использованы методы световой микроскопии и гистологии. Следует отдельно подчеркнуть, что для решения поставленных задач традиционные методики успешно сочетаются с современными методическими подходами.

В трех основных разделах Результаты последовательно изложены данные, полученные непосредственно самим автором. В начале описывается общая морфология и строение внутренних органов в норме у изучаемых животных. Приводятся конкретные данные по макроанатомии и микроанатомии тегмена, места прикрепления висцеральной массы к чашечке, пищеварительной системы. Далее дан подробный анализ процессов отделения висцеральной массы у *Himerometra robustipinna*, в том числе на уровне поведенческих реакций, изменения анатомии и ультраструктуры различных органов. Полученные данные являются приоритетными и позволяют автору четко определить этот процесс как истинную аутомию.

В последующем разделе результатов охарактеризован ход регенерации пищеварительной системы после аутономии у исследуемого вида морской лилии. Эти данные также являются приоритетными. Результаты электронно-микроскопических исследований позволяют судить о вкладе тех или иных тканей в развитие регенерата, о морфоллактическом характере регенерации пищеварительной системы. Кроме того, полученные результаты дают веские основание предположить бифункциональность юксталигаментных клеток и их ведущую роль в восстановлении пищеварительной системы путем вероятной миграции и трансдифференцировки, что показано впервые.

Важно отметить, что раздел Результаты хорошо проиллюстрирован качественными фотографиями и схемами.

Раздел Обсуждение суммирует все наиболее важные полученные автором данные и проводит сравнительный анализ с ранее известными на других видах. Здесь Надежда Владимировна показала не только глубокое знание проблемы, но способность к самостоятельному критическому анализу большого массива данных.

В Разделе Заключение автор кратко подводит итоги. Выводы – логическое завершение анализа полученных результатов.

Список литературы включает 220 наименований и может считаться практически исчерпывающим для данной темы.

Н.В. Бобровской было проведено оригинальное исследование процессов аутономии и регенерации пищеварительной системы у морской лилии *Himerometra robustipinna*. Применение чрезвычайно трудоемких, но высоразрешающих методов электронной микроскопии в сочетании с экспериментальным подходом позволило дать детальное описание юксталигаментных клеток и сделать вывод о их вероятной бифункциональности, при которой возможна трансдифференцировка этих клеток в энтероциты при восстановлении кишки. Следует отметить, что большинство из приведенных автором результатов показаны впервые и дают новый материал для сравнительных исследований. Данные, полученные автором позволяют сделать вывод о морфоллактическом характере регенерации пищеварительной системы данного вида.

Результаты работы Н.В. Бобровской имеют значительную научную и практическую ценность. Полученные данные позволяют лучше понять тонкие механизмы регенерации у животных и расширяют представления о разнообразии юксталигаментных клеток и их функций у иглокожих.

Диссертация содержит очень большой по объему и трудоемкости в получении материал, который может служить надежной основой для дальнейших экспериментальных разработок модели регенерации у иглокожих.

У меня нет существенных и принципиальных замечаний по существу представленной диссертации. Диссертация четко структурирована и написана ясным языком. Содержание автореферата правильно отражает основные положения диссертации. Диссертация в целом представляет собой законченный научный труд, в котором содержится решение задачи, имеющее существенное значения для данного направления фундаментальной науки.

Однако работа не лишена небольших недостатков. Так, в описании методики фиксации не для всех фиксаторов приводится время фиксации и температура. В тексте диссертации нет прямого указания на количество объектов, взятых в эксперимент и использованных. В работе отсутствует желательная схема изменений ультраструктуры юкстастигаментных клеток, позволяющая читателю ясно представить себе последовательность этих изменений. К сожалению, автор не использовал возможности оценки динамики клеточных популяций с помощью предшественников тимидина. Это отчасти объяснимо и без того огромным и достаточным объемом работ по исследованию ультраструктуры. В отсутствие этих данных, вывод 5, с моей точки зрения, сформулировал излишне категорично. В первое предложение этого вывода я бы добавил слово «вероятно». Хотелось бы в будущем увидеть продолжение этой работы в виде анализа включения предшественников ДНК, о чем пишет и сама Надежда Владимировна, что, несомненно, позволило бы сделать гораздо более уверенный вывод.

Следует отметить, что текст рукописи тщательно выверен, хотя в работе имеются отдельные опечатки, в некоторых случаях в подрисуночных подписях нет расшифровки отдельных обозначений (например, рис. 12А, 13Г, 16А, 22 В,Г, 23А,Б, 27В, 29В, 31Г).

Перечисленные замечания не влияют на общую высокую оценку работы Н.В.Бобровской и не ставят под сомнение основные результаты и выводы диссертации. Бесспорно, рассматриваемая работа вносит серьезный вклад в одну из наиболее актуальных и разрабатываемых в настоящее время областей биологии развития.

Основные результаты диссертации опубликованы в реферируемых отечественных и международных журналах и многократно представлены на российских и международных конференциях. По теме диссертации автором опубликовано 2 статьи в рецензируемых международных журналах и журналах из списка ВАК, а также 3 тезисов докладов на

российских и международных конференциях, причем в большинстве публикаций Н.В.Бобровская является первым автором.

Таким образом, диссертационная работа «Механизмы аутономии и регенерации пищеварительной системы у морской лилии *Himerometra robustipinna*» соответствует квалификационным критериям требованиям «Положения о присуждении ученых степеней» от 24 сентября 2013г. № 842 , а ее автор, Бобровская Надежда Владимировна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.05 – биология развития, эмбриология.

доцент, и.о. заведующего кафедрой эмбриологии

Санкт-Петербургского государственного университета,

к.б.н.

 Р. П. Костюченко

10 марта 2015 г.

Костюченко Роман Петрович, доцент, и.о. заведующего кафедрой эмбриологии кафедры эмбриологии Биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета, Университетская наб. 7/9, 199034, Санкт-Петербург



Подпись *Р. Р. Костюченко*
ЗАВЕРЯЮ
00111 10.03.2015г.