

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Халисова Максима Миндигалеевича
«ПРИМЕНЕНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ
ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ОТКЛИКА НАТИВНЫХ КЛЕТОК НА ВНЕШНИЕ
ВОЗДЕЙСТВИЯ»,

представляемую на соискание учёной степени кандидата технических наук по специальности 01.04.01 – приборы и методы экспериментальной физики

Актуальность

Диссертация Максима Миндигалеевича Халисова посвящена проблеме определения механических свойств клеток методами атомно-силовой микроскопии. Механические параметры эукариотических клеток являются одной из их важнейших характеристик, напрямую связанной с их биологической функцией. С одной стороны, помимо очевидной важности параметров жесткости сократительных волокон мышечной ткани, механические свойства исключительно важны в описании процесса миграции клеток, движения клеток крови в кровотоке, объемного гомеостаза, барьерной функции эпителия и множества других физиологических процессов в норме и патологии. С другой стороны, изменение механических свойств клеток может использоваться в качестве индикатора целого ряда процессов в клетке от перестройки цитоскелета до активации трансмембранного транспорта.

Развитие приборной базы атомно-силовой микроскопии с реализацией в современных приборах различных квазистатических режимов сканирования и адаптация их для работы с биологическими образцами в физиологически адекватных условиях позволяет в процессе эксперимента получать все большие объемы информации о механических свойствах исследуемого объекта. В этом отношении особенно важным является разработка экспериментальных методик таких измерений и теоретических подходов для анализа и корректной интерпретации их результатов.

Таким образом, актуальность поставленных задач, их практическая значимость и методы решения не вызывают сомнений и заслуживают самой высокой оценки.

Общая оценка диссертации

Диссертационная работа М.М. Халисова посвящена разработке новых и адаптации существующих методов измерения механических характеристик клеток животных и человека с использованием атомно-силовой микроскопии. Диссертация выполнена на 143 страницах и состоит из введения, шести глав, заключения и списка цитируемой литературы из 246 ссылок. Актуальность исследования, его цель и задачи, научная новизна, значимость, а также положения, выносимые на защиту, приведены во введении.

Диссертационная работа в целом производит очень благоприятное впечатление. В ней содержится подробный анализ современных методов атомно-силовой микроскопии, теоретических основ использования этих методов и интерпретации результатов, а также особенностей их применения в различных типах экспериментов на биологических объектах. В диссертационной работе представлены новые результаты исследований механических свойств ряда клеток животных и их изменений под воздействием фармакологических агентов и условий окружающей среды, при этом общая методика измерений успешно адаптирована для каждого из исследуемых объектов и проведенных экспериментов с тщательным анализом условий и результатов измерений.

В то же время, в работе есть ряд моментов, которые могут вызвать вопросы у читателя.

1. Отсутствует единый раздел с описанием используемых методов статистического анализа и представления результатов, хоть они и упоминаются в тексте и понятны из контекста работы.
2. Поскольку клетки являются многокомпонентными, неоднородными объектами, непонятно, насколько изначально обоснованно применение моделей индентации однородных материалов, в частности модели Герца, для анализа результатов измерений на клетках. Рассматриваемые в работе модели дают различные зависимости силы от глубины индентации (от линейной до квадратичной), однако автор не приводит данных о том, какая из зависимостей лучше всего соответствует наблюдаемой в эксперименте.
3. Приведенные в диссертации результаты основаны на данных, полученных только методами атомно-силовой и оптической микроскопии, что делает

обсуждение биологического аспекта результатов измерений несколько спекулятивным. Так, использование блокаторов механочувствительных катионных каналов и другого трансмембранного транспорта, задействованного в регуляции объема, позволило бы более уверенно говорить о физиологическом значении наблюдаемого изменения морфологии закрепленных на подложке эритроцитов, а оценка изменения содержания соответствующих белков – однозначно связать наблюдаемые изменения эффективного модуля Юнга клеток эндотелия именно с изменениями в цитоскелете. В части обсуждения механизма влияния убаина на механические свойства нервных клеток также необходимо учесть вклад множества факторов, на которые влияет ингибирование $3\text{Na}^+2\text{K}^+\text{-ATPазы}$, начиная от мембранного потенциала клетки и клеточного объема.

Степень обоснованности научных положений

Воспроизводимость экспериментов, уверенное использование общепринятых методов статистического анализа результатов, а также согласие полученных экспериментальных результатов с современными знаниями об устройстве нативных животных клеток, не оставляют сомнений в качестве и достоверности полученных в работе результатов. Результаты работы были представлены в виде докладов, публикаций в тезисах научных мероприятий и рецензируемых журналах, что также свидетельствует в пользу их качества.

Некоторое сомнение может вызвать лишь выносимое на защиту положение 3, и лишь в той его части, что «селективное разрушение цитоскелетных структур приводит к уменьшению измеренного эффективного модуля Юнга...»: несмотря на использование стандартных фармакологических агентов, для такого утверждения все-таки требуется подтвердить факт разрушения цитоскелетных структур в проводимом эксперименте общепризнанными методами.

Заключение

Несмотря на вышеприведенные замечания, представленная работа выполнена на высоком уровне и содержит большое количество значимых оригинальных результатов. Проведенные эксперименты соответствуют заявленным задачам исследовательской работы, а выводы – полученным экспериментальным и теоретическим результатам. Работа имеет высокую актуальность и новизну и, несомненно, соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (ред. от 01.10.2018), а ее автор – присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 01.04.01 – приборы и методы экспериментальной физики.

Официальный оппонент:

Лебедев Дмитрий Витальевич

Кандидат физико-математических наук

Исполняющий обязанности заместителя руководителя Отделения

Молекулярной и радиационной биофизики

Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

Федерального государственного бюджетного учреждения

Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова

Телефон оппонента: +7(81371)4-66-60

Электронный адрес оппонента: lebedev_dv@pnpi.nrcki.ru

Подпись руки *Лебедев Д.В.*
ЗАВЕРЯЮ
начальнику отдела кадров Зиновьева А.Н.

к.ф.-м.н., и.о. зам.рук. Отделения молекулярной
и радиационной биофизики

НИЦ "Курчатовский институт" - ПИЯФ

Лебедев Д.В.
Лебедев Д. В.
06 декабря 2018 г.

06.12.2018

Сведения об организации:

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» Федеральное государственное бюджетное учреждение Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова.

188300, Ленинградская область, г. Гатчина, Орлова роща, д.1, НИЦ "Курчатовский институт" - ПИЯФ

Сайт: <http://www.pnpi.spb.ru/>;

Электронная почта: omrb@pnpi.nrcki.ru

Тел.: +7(813-71)46093, +7(813-71) 46025; факс +7(813-71)32303

