

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Гоголевой Виолетты Сергеевны
на тему: «Нейроиммунные и гомеостатические функции
лимфотоксина альфа»
по специальности 3.2.7. «Иммунология»

Актуальность избранной темы. Диссертация В.С. Гоголевой «Нейроиммунные и гомеостатические функции лимфотоксина альфа» посвящена изучению роли ближайшего гомолога TNF, лимфотоксина альфа, в гомеостазе некоторых компартментов иммунной системы, а также в патогенезе модели рассеянного склероза на мышах, экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита.

Целью диссертационного исследования является определение нейроиммунных, а также некоторых гомеостатических функций молекулярных форм лимфотоксина альфа.

Обоснованность научных положений.

Обоснованность научных положений диссертации В.С. Гоголевой не вызывает сомнений. В доказательство этого автор приводит достаточно убедительные аргументы, соответствующие литературному обзору и методологическим подходам.

Обоснованность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Работа выполнена на высоком методологическом уровне. Выводы и практические рекомендации четко сформулированы, объективны,

вытекают из содержания работы, соответствуют поставленным целям и задачам. В ходе экспериментов работа была разделена на 2 основных этапа и были доказаны следующие положения:

1. $L\Gamma\alpha$ важен для поддержания гомеостаза популяции лимфоцитов врожденного иммунитета типа 3 (ILC3) в тонком кишечнике и для дифференцировки миелоидных клеток в моноциты *in vitro*.
2. Полная генетическая и системная фармакологическая инактивация лимфотоксина α не влияет на чувствительность мышей к экспериментальному аутоиммунному энцефаломиелиту.
3. Отдельные функции молекулярных форм лимфотоксина α в модели нейровоспаления проявляются на разных стадиях заболевания и могут быть отнесены к конкретным клеткам-продуцентам, которые различаются по локализации.

Практические рекомендации Гоголевой В.С. можно использовать в учебном процессе на кафедрах иммунологии, молекулярной биологии, фундаментальной медицины, а также при обучении аспирантов в научно-исследовательских институтах, специализирующихся на изучении иммунологии, генетики, патофизиологии.

Достоверность и новизна. Высокая степень достоверности результатов исследования определяется полным объемом материала, применением экспериментальных методов, апробированных мировым научным сообществом. Результаты работы Гоголевой В.С. в каждом эксперименте были воспроизведены как минимум в двух независимых опытах. Научная

новизна настоящей диссертационной работы не вызывает сомнений, что подтверждается следующими результатами. Показано, что LTA в норме участвует в поддержании гомеостаза лимфоцитов врожденного иммунитета типа 3 (ILC3) в собственной пластинке тонкого кишечника и в дифференцировке миелоидных клеток в моноциты *in vitro*. Впервые продемонстрировано, что инактивация LTA не влияет на чувствительность мышей к MOG₃₅₋₅₅-зависимому экспериментальному аутоиммунному энцефаломиелиту (ЕАЕ). Более того, оказалось, что в зависимости от конкретного клеточного источника молекулярные формы LTA могут выполнять различную роль в патогенезе ЕАЕ.

Результаты работы опубликованы в пяти журналах. По теме диссертации были представлены работы в 5 конференциях всероссийского и международного уровня. Полученные диссертантом результаты, безусловно, имеют большое значение как для фундаментальной науки в области клеточной и молекулярной иммунологии, так и для прикладных биомедицинских исследований. На основе данных, представленных в диссертационном исследовании, могут быть выработаны новые показания к применению блокатора TNF Этанерцепта, а также стратегии для разработки клеточно-специфичных подходов к блокировке LTA в терапии аутоиммунных заболеваний.

Общая характеристика диссертационной работы. Диссертационная работа Гоголевой В.С. построена по традиционному плану и включает в себя: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список литературы, который состоит из 239 источников, включая публикации последних лет. Работа изложена на 96 страницах, содержит 21 рисунок и 4 таблицы.

Глава «**Обзор литературы**» (25 стр.) полностью соответствует теме работы и предоставляет все необходимые для понимания работы сведения. Тема обзора соответствует основным задачам, поставленным в работе.

В главе «**Материалы и методы**» (11 стр.) подробно изложены все данные, необходимые для проведения описанных экспериментов. Однако было бы более наглядно, если бы автор описал протокол получения костномозговых предшественников *in vitro* именно в этой главе, а не в краткой подписи к рисунку 5. В целом, для получения результатов в работе использованы современные высокотехнологичные методы иммунологии, клеточной и молекулярной биологии, биохимии. Общий методический уровень работы высок, статистическая обработка данных выполнена корректно.

В разделе «**Результаты**» (20 стр.) присутствует достаточное количество рисунков, значительно облегчающих понимание излагаемого автором материала. Данная глава содержит большой объем экспериментальных данных. Описание полученных результатов логически обоснованное и поэтапное. Раздел «**Обсуждение**» (7 стр.) позволяет объединить полученные результаты в единую картину.

Выводы работы отражают полученные результаты и не вызывают сомнений в своей достоверности. Автор проводит детальный анализ всех полученных результатов и делает обоснованные выводы.

Автор решил все поставленные перед ним задачи. Основная часть работы выполнена лично автором на высоком научном и методическом уровне.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, выводы логично вытекают из полученных данных.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями и полностью отражает содержание диссертации. Содержание автореферата и научных публикаций соответствует основным положениям диссертации.

Диссертационное исследование выполнено на высоком профессиональном уровне с использованием уникальных животных моделей. Получен большой объем данных, опубликованных в авторитетных иммунологических журналах.

Принципиальных замечаний, которые могли бы снизить общую положительную оценку работы, нет.

Ряд замечаний и комментариев к работе:

- 1) В работе автор использует обозначения memLT и LT β , что несколько запутывает читателя. Также многократно упоминается, что удаление LT α приводит к отсутствию как растворимой, так и мембраносвязанной форм. С учётом факта, что мембранно-связанная форма состоит и из LT α , и из LT β , использование только аббревиатуры memLT, представляется наиболее правильным вариантом. Возникает вопрос, возможна ли сборка и независимая от LT α тримеризация LT β ? Существует ли механизм компенсации, если ген LT β не затронут модификациями и должен экспрессироваться на нормальном уровне или увеличенном?
- 2) На рисунке 1 в Автореферате и на рисунке 4 в Диссертации хорошо было бы указать схему локуса TNF/LT α дикого типа (*Lta*^{flox/flox}), чтобы четко понимать, что за модификации изучались, а также добавить схему 3-х Сределитеров в Материалы и Методы.
- 3) В части про участие TNF и LT α в развитии миелоидных предшественников не совсем корректно использование словосочетания «миелоидных клеток», поскольку на 5-й день культивирования это именно предшественники. Кроме этого, автор не упомянул, что происходит с процентным соотношением и количеством LубG⁺ предшественников.

- 4) Из предыдущего пункта вытекает вопрос: как уменьшение количества моноцитарных предшественников *in vitro* коррелирует с развитием моноцитов в организме LТ α -дефицитных мышей *in vivo*? Этот вопрос особенно важен в связи с тем, что в модели ЕАЕ, по сравнению с экспериментом *in vitro*, где наблюдается драматическое снижение моноцитов, наоборот, моноцитарная инфильтрация увеличивается.
- 5) В связи с доказанной в данной работе важностью LТ α в развитии гемопоэтической системы и в патогенезе аутоиммунных состояний у человека, интересной представляется дискуссия о наличии и последствиях наследственных полиморфизмов в гене LТ α .
- 6) Возникает вопрос: может ли разница в развитии заболевания между мышами с полным удалением *Lta* и с кондиционным удалением *Lta* в ИLC3 и Т-клетках быть связана с наличием некоторого порогового значения?
- 7) Проводились ли автором эксперименты по изучению симптоматики ЕАЕ на мышах с удалением TNFR1 в LysM⁺ клетках?

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 3.2.7. «Иммунология» (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, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель **Гоголева Виолетта Сергеевна** заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. «Иммунология».

Официальный оппонент:
доктор медицинских наук,
ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института цитологии Российской академии наук и
Университета Бургундии и Института здоровья и медицинских
исследований INSERM

ДЕМИДОВ Олег Николаевич

Дата подписания 20.02.2024 г.

194064, ФГБУ Институт цитологии РАН, Тихорецкий проспект , 4, Санкт-Петербург. Шифр и наименование специальности, по которой защищена диссертация: 03.02.07 – Генетика

Подпись ведущего научного сотрудника

Института цитологии РАН Демидова О.Н. удостоверяю:

Ученый секретарь ученого совета научного

ФГБУ ИНЦ РАН

Тюряева Ирина Ивановна