

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**на диссертацию на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук Горшковой Екатерины Александровны**  
**на тему: «Особенности иммунной системы голого землекопа**  
**(*Heterocephalus glaber*)»**  
**по специальности 3.2.7. «Иммунология»**

**Актуальность избранной темы** не вызывает сомнений. Голый землекоп в последнее время активно изучается в ряде мировых лабораторий, однако к классической экспериментальной модели его отнести никак нельзя — многое в физиологии и, тем более, клеточной биологии этого вида остается невыясненным. Как известно, это животное ведет так называемый «эусоциальный» образ жизни, уникальный среди млекопитающих и демонстрирует феноменально высокую продолжительность жизни среди грызунов, а также устойчивость к развитию опухолей. Объяснение механизмов, лежащих в основе этих физиологических особенностей, представляется важным для современных трансляционных исследований и поиска новых подходов к контролю старения и болезней, ассоциированных со старением. Как справедливо замечает автор диссертации в литературном обзоре, особенности иммунной системы могут быть одним из таких механизмов, в то время как знания о ней пока недостаточно интегрированы в общую картину биологии вида.

Диссертационная работа Горшковой Екатерины Александровны посвящена исследованию иммунной системы голого землекопа (*Heterocephalus glaber*). Диссертационная работа имеет классическую структуру и содержит обзор литературы, описание методов, результаты и дискуссию.

Литературный обзор содержит исчерпывающую информацию по рассматриваемой теме. Методы описаны подробно и корректно. Результаты содержат два больших раздела: первый посвящен иммуноморфологическим

особенностям строения первичных и вторичных органов иммунной системы голого землекопа, второй рассматривает особенности ответа миелоидных клеток животного на клеточном и молекулярном уровнях при их активации в моделях *in vitro*.

В начале первого раздела автор приводит сведения о подборе инструментов, то есть иммунологических реагентов, легших в основу изучения морфологии и клеточного состава первичных лимфоидных органов голого землекопа. Затем представляет результаты сравнения структуры данных органов и представленности в них основных популяций иммунных клеток между голым землекопом и мышью. Если для таких иммунных компартментов как селезёнка и костный мозг автор может провести параллели между собственным исследованием и новейшими работами с использованием технологии секвенирования единичных клеток, то лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником, у голого землекопа ранее не была изучена ни классическими, ни NGS методами, и не обсуждалась в литературе.

Второй раздел результатов также начинается с методических данных о подборе температурных условий для выращивания первичных культур иммунных клеток голого землекопа.

Наиболее подробно изложены данные по функциональной характеристике про- и противовоспалительных макрофагов костного мозга голого землекопа. Автором показано, что поляризация макрофагов голого землекопа в провоспалительных условиях приводит к развитию ожидаемого иммунометаболического фенотипа. Отличительной чертой M1 макрофагов голого землекопа является отсутствие продукции оксида азота, в том числе при введении LPS системно. При анализе данных РНК-секвенирования M1-макрофагов голого землекопа выявлено, что несмотря на консервативность программы активации генов, ассоциированных с иммунным ответом, изменение генов, ассоциированных с метаболизмом азота, неодинаково у голого землекопа и мыши, что может отражать эволюционные особенности

видов. Макрофаги голого землекопа, активированные рекомбинантным IL-4, не приобретают характерные для противовоспалительных макрофагов черты, такие как увеличение экспрессии и продукции характеристических цитокинов, рост митохондриального дыхания и слияния. Автор рассуждает о том, что использование рекомбинантных факторов роста мышцы для поляризации макрофагов голого землекопа может быть неоптимальным с точки зрения специфичности взаимодействия с нативными рецепторами, что является существенным ограничением экспериментальной системы.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Основные научные положения и выводы, сформулированные в работе, обоснованы и следуют из результатов, полученных автором в ходе выполнения работы. Выводы соответствуют поставленным задачам. Все задачи, поставленные автором, выполнены. Цель работы достигнута - установлено, что иммунная система голого землекопа отличается от таковой у мыши с точки зрения клеточного состава иммунных органов. Например, лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником, является самым крупным вторичным лимфоидным органом голого землекопа за счёт более высокого абсолютного количества лимфоцитов собственной пластинки кишечника, чем у мышей. Также установлено, что в костном мозге и селезёнке голого землекопа наблюдается меньшее абсолютное количество клеток, однако увеличено процентное содержание CD11b<sup>+</sup> CD14<sup>+</sup>миелоидной популяции по сравнению с мышью. На основании

экспериментов с макрофагами голого землекопа в модели поляризации, было показано, что макрофаги костного мозга голого землекопа, активированные воспалительных условиях, приобретают фенотип, сходный с M1 макрофагами мыши, но в то же время способны лучше поддерживать функциональную активность митохондрий и не продуцируют оксид азота, что может отражать адаптацию иммунной системы к гипоксии в тканях голого землекопа.

### **Достоверность и новизна результатов диссертационной работы**

Достоверность результатов и выводов работы соответствует требованиям и не вызывает сомнений. В ходе выполнения работы автор использовал методические подходы, соответствующие международным стандартам, а результаты были воспроизведены в независимо поставленных экспериментах. Статистическая обработка данных корректна. Новизна результатов диссертационной работы связана, в первую очередь, с выбранным объектом исследований — голым землекопом — для которого сведения о составе и функционировании иммунной системы остаются разрозненными и недостаточными, а, например, компартмент иммунной системы, ассоциированный с кишечником, ранее вообще не был охарактеризован. Особый интерес представляет проведенное впервые исследование особенностей клеточного метаболизма макрофагов голого землекопа в модели поляризации *in vitro*. Полученные результаты в этой части работы не зависят от возможных технических проблем, связанных с отсутствием специфических для голого землекопа рекомбинантных белков и антител, и могут быть развиты в дальнейшем с перспективой получения важных данных относительно адаптаций организма землекопа и сопутствующих особенностей физиологии. Автором были предложены иммунологические реагенты, кросс-специфично распознающие поверхностные маркеры иммунных клеток, а также оригинальные протоколы, позволяющие изучать иммунные клетки, выделенные из организма голого землекопа.

При анализе работы возникли следующие замечания и вопросы:

- 1) Автор употребляет выражение «анатомическое строение иммунной системы», хотя речь идет скорее о гистологическом строении и клеточной структуре;
- 2) Для будущих исследований хорошо бы провести дополнительную проверку выбранных антител согласно рекомендациям Международной рабочей группы по валидации антител с целью повышения надежности данных;
- 3) Вывод о влиянии условий культивирования на эффективность размножения клеток кроветворного ряда, на мой взгляд, стоит делать с большой

осторожностью с учетом не до конца выясненной эффективной активностью цитокинов человека, использованных в этих экспериментах

4) В работе был изучен и охарактеризован широкий спектр органов важных для иммунного ответа, в частности кишечник и лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником. Проводился ли анализ особенностей лимфоидных тканей, ассоциированных с другими «барьерными тканями», например, легкими и кожей?

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 Горшкова Екатерина Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. «Иммунология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, член-корреспондент РАН

Заведующий лабораторией клеточной биологии

ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова»

Российской академии наук

ВОРОТЕЛЯК Екатерина Андреевна

09.06.2023

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация:

03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология

Адрес места работы:

119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 26

ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» Российской академии наук, лаборатория клеточной биологии.

Тел.: +7-499-135-40-81; email:vorotelyak@idrabs.ru

Подпись сотрудника

ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» РАН

Е.А Воротеляк удостоверяю:

Ученый секретарь.

ИБР РАН, к.б.н. доцент

Хабарова М. Ю.