

**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»

Диссертационная работа Горшковой Екатерины Александровны посвящена исследованию слабо проработанного в литературе вопроса: иммунной системы голого землекопа (*Heterocephalus glaber*). Екатерина Александровна рассматривает предмет своего интереса с разных сторон: с точки зрения анатомических особенностей строения первичных и вторичных органов иммунной системы голого землекопа, с точки зрения особенностей гистологии, клеточного состава, а также сравнивая особенности ответа тех или иных иммунных клеток животного на молекулярном уровне при их активации. Актуальности работы не вызывает сомнения. Многие аспекты физиологии голого землекопа, связанные с его продолжительностью жизни и устойчивостью к опухолевым заболеваниям, являются предметом многочисленных работ, однако, иммунная система данного долгоживущего грызуна редко попадает в фокус интереса ученых, что указывает на необходимость продолжения исследований в этой области. Это объясняется в том числе недостаточно развитым инструментарием, а именно отсутствием видоспецифических антител против голого землекопа, столько необходимых для иммунофенотипирования. В своей работе Екатерина Александровна успешно справилась с этой трудностью: после анализа кросс-реактивности анти-мышинных антител ею была выбрана панель, в дальнейшем использованная в работе.

Диссертация Екатерины Александровны построена по классическому принципу. Обзор литературы полно раскрывает имеющиеся на сегодняшний день представления об особенностях систематики, ареала обитания, социальной иерархии голого землекопа, подробно рассматриваются

особенности терморегуляции животного, механизмы устойчивости к гипоксии, аноксии и гиперкапнии, а также современные данные о строении и функционировании его иммунной системы. В материалах и методах Екатерина Александровна подробно описывает все применявшиеся в работе подходы. Среди вопросов и замечаний к этому разделу хотелось бы выделить:

- 1) Было ли исследование с использованием голых землекопов и мышей согласовано локальным этическим комитетом?
- 2) Как проверялась нормальность распределения? Какой корреляционный тест применялся в работе? Его упоминание есть в результатах, однако, его описание отсутствует в Материалах и методах.
- 3) Не введено сокращения DPBS, употреблен жаргонизм “откручивали”.

В разделе результаты Екатерина Александровна описывает как на анатомическом, гистологическом, клеточном и молекулярном уровне иммунная система голого землекопа отличается от таковой у мыши. В работе были использованы как классические иммунологические подходы, так и современные молекулярные методы. В целом, стоит отметить методическое разнообразие и общий высокий уровень исследования. Повествование в разделе ведется логично и не вызывает нареканий, все эксперименты грамотно спланированы, выводы обоснованы, проведена адекватная статистическая обработка результатов. Достоверность и новизна результатов не вызывает сомнений. Автором были получены ряд важных наблюдений: длина тонкого кишечника у голого землекопа в несколько раз меньше по сравнению с таковой у мыши, плотность расположения пейеровых бляшек выше, количество клеток собственной пластинки кишечника (*lamina propria lymphocytes*), разделенное на массу кишечника, было также значимо выше, чем у мыши. В связи с этим Екатерина Александровна делает вывод о том, что лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником, является самым крупным вторичным лимфоидным органом голого землекопа. Далее в работе проводится подсчет абсолютного количества клеток, выделенных из селезенки и костного мозга, проводится их иммунофенотипирование и эксперименты *in*

vitro. Полученные результаты сравниваются с аналогичными показателями у мыши. Финальный блок результатов посвящен масштабному исследованию функциональной активности макрофагов голого землекопа и мыши в ответ на проводимую M1 или M2 поляризацию. Екатерина Александровна проводит не только поиск M1 и M2 маркеров путем ПЦР в реальном времени, проведение РНК-секвенирования и мультиплексного анализа кондиционированной среды, но и анализирует метаболизм клеток с помощью респирометрии. Автором получен важный вывод: Активированные провоспалительные макрофаги не производят оксид азота, увеличивают экспрессию провоспалительных генов и аэробный гликолиз, что вероятно является приспособительным механизмом иммунных клеток к гипоксическим условиям окружающей среды. При чтении этого раздела диссертационной работы возникает ряд вопросов и замечаний: 1) проверялись ли на предмет кросс-реактивности антитела к антигенам CD68 и LybC для дальнейшего использования в работе? CD68 является классическим пан-макрофагальным маркером, а LybC по сути является аналогом CD14 у человека, служащим для классификации моноцитарных субпопуляций мыши. 2) Почему для сравнения с голым землекопом была выбрана именно эта линия мышей? 3) Рис.7 - проводилась ли нормировка количества клеток на массу органа? 4) Как объяснить повышение уровня IL-10 и IL-13 после M1 поляризации макрофагов мыши? 5) На Рис. 4,7,8,9 нет расшифровки знака значимых различий в подписи к рисунку. 6) Рис. 20, у частей рисунка Г, Д и Е отсутствует описание в подписи к рисунку. 7) Замечание к терминологии: автор неоднократно употребляет выражение “макрофаги костного мозга”, хотя методологически это макрофаги, полученные из их костномозговых предшественников. Следует помнить, что в самом костном мозге имеются собственные резидентные макрофаги, называемые в литературе *osteal macrophages* и отличные от популяции костных остеокластов.

Автор завершает диссертацию обсуждением полученных результатов, сравнивая полученные данные с литературными и подводя итоги работы.

Данная диссертация несомненно вносит вклад в понимание функционирования иммунной системы голого землекопа, подчеркивает различия в клеточном составе и внутриклеточном сигналинге иммуноцитов этого долгоживущего грызуна по сравнению с мышью. Выводы диссертации сформулированы четко и адекватно и соответствует поставленным в работе задачам.

Указанные в отзыве 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:

кандидат биологических наук,
заведующая лабораторией регенеративной медицины
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный
медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и
перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Вишнякова Полина Александровна

06.06.2023

Контактные данные:

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Адрес места работы:

117997, г. Москва, ул.Опарина, д. 4,
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный
медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и
перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, лаборатория регенеративной
медицины

Тел.: +7(495) 531 44 44; e-mail: p_vishnyakova@oparina4.ru

Подпись сотрудника

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный
медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и
перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

П.А.Вишняковой удостоверяю:

Ученый секретарь, к.м.н., доцент

С.В.Павлович