

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Государственный научный центр
Российской Федерации

**ИНСТИТУТ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ**
Российской академии наук
(ГНЦ РФ-ИМБП РАН)
ИНН/КПП 7714038980/771401001
ОГРН 1027739333710

Хорошевское шоссе, д. 76А, г. Москва, 123007
телефон: (499) 195-15-73, факс: (499) 195-22-53
e-mail: doc@imbp.ru <http://www.imbp.ru>

№ 109/
На № _____ от _____



УТВЕРЖДАЮ

Директор ГНЦ РФ ИМБП РАН,
академик РАН Орлов О.И.

« 26 » _____ 2020 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ

о научно-практической ценности диссертации

Лохониной Анастасии Вячеславовны «Сравнительная характеристика иммунофенотипических и функциональных свойств макрофагов эмбрионального и костномозгового происхождения», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы выполненной работы

Макрофаги представляют собой один из ключевых клеточных типов, регулирующих многочисленные морфогенетические процессы в организме человека, как в нормальных условиях, так и при повреждении органов и тканей различного генеза. Центральное положение макрофагов в системе поддержания тканевого гомеостаза делает данный клеточный тип перспективной мишенью для терапевтического воздействия в условиях той или иной патологии.

Гетерогенность популяции макрофагов определяет сложность использования их самих в качестве клеточной терапии, либо как терапевтических мишеней. В организме человека присутствует несколько популяций клеток макрофагального

ряда, отличающиеся источниками происхождения. Установлено, что большинство резидентных макрофагов развивается из клеток-предшественников стенки желточного мешка, в то время как большая часть макрофагов дермы кожи и слизистых оболочек имеет костномозговое (моноцитарное) происхождение. Причины такого распределения клеток в организме до конца неизвестны. Кроме того, каким образом источник происхождения макрофагов отражается на их функции также мало изучено.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

Для изучения функциональных особенностей макрофагов разного происхождения автором впервые был использован подход прямого сравнения свойств макрофагов крыс. В работе использованы макрофаги костномозгового происхождения (моноцит-производные макрофаги) и резидентные макрофаги, происходящие из клеток-предшественников стенки желточного мешка, на примере макрофагов печени – клеток Купфера.

Выделение макрофагов двух типов в культуру позволило получить прямые данные о реакции на различные факторы активации. Автором установлено, что резидентные макрофаги (клетки Купфера) несут на своей поверхности белки, которые обычно относят к маркерам противовоспалительных (прорегенераторных) макрофагов – CD163 и CD206. Кроме того, в резидентных макрофагах быстрее и на более длительное время повышалась экспрессия генов противовоспалительных цитокинов – *il4*, *il10*, *il13*, а в макрофагах костномозгового происхождения – провоспалительных *il1b*, *il12a* и *tnfa*. Таким образом, резидентные макрофаги в органах поддерживают гомеостаз в физиологических условиях, в то время как костномозговые макрофаги необходимы в условиях воспаления. Автором также высказано предположение о причинах того, почему в резидентных макрофагах преобладает экспрессия противовоспалительных маркеров. Предполагается, что костномозговые макрофаги обладают большей чувствительностью к факторам активации, в частности к липополисахариду (LPS). Этот факт делает именно макрофаги костномозгового происхождения более предпочтительным клеточным

типом, который в дальнейшем можно использовать в качестве терапевтического агента клеточной терапии.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование базируется на изучении иммунофенотипических, морфологических и функциональных свойств макрофагов крыс из разных тканевых источников в интактном состоянии и на *in vitro* модели поляризации по провоспалительному M1 или противовоспалительному M2 фенотипу. Результаты проведенных исследований были получены с использованием широкого набора биохимических, молекулярно-биологических, иммуноцитохимических, гистологических методов и корректно обработаны с применением современных программ по статистике и компьютерной морфометрии. Экспериментальная работа обоснована достаточным количеством экспериментальных групп и числом наблюдений. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений. В целом работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, корректно изложена и содержит результаты, которые соответствуют поставленным целям и задачам исследования.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Работа представляет большое значение для развития, как фундаментальной науки, так и прикладных исследований по разработке новых методов лечения. Результаты исследований вносят важный вклад в дальнейшее развитие клеточных технологий для лечения ряда заболеваний, в течение которых ключевую роль играют макрофаги. Особенно это важно для лечения онкологических заболеваний, так как опухолевые клетки обладают способностью рекрутировать из периферической крови моноциты и обеспечивать активацию их проопухолевого фенотипа.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов работы

Основные результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» и ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Личный вклад соискателя состоит в планировании и проведении экспериментов, выборе методов исследования, подборе адекватных моделей, заборе материала для исследования, анализе экспериментальных данных и их статистической обработке, обобщении результатов исследования и подготовке публикаций.

Структура работы и ее содержание соответствуют требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка используемых сокращений и списка литературы, включающего 186 источников (из них - 4 отечественной и 182 - зарубежной). Работа содержит достаточное количество таблиц и рисунков, наглядно демонстрирующих результаты исследований. Основные положения диссертации опубликованы в 12 научных изданиях, из них 6 статей в журналах, рекомендуемых ВАК РФ. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

При изучении работы возникли некоторые общие замечания и вопросы, которые можно обсудить в порядке дискуссии при защите работы:

1. Для сравнения в работе были взяты две популяции клеток: дифференцированные макрофаги печени (клетки Купфера) и моноциты периферической крови. Исходно, эти клетки отличались по уровню

коммитирования. При культивировании моноциты спонтанно дифференцировались в M0 макрофаги. Как изменялись фенотип и функциональная активность клеток Купфера за то же время пребывания в культуре?

2. Какие можно предположить механизмы взаимодействия резидентных и мигрирующих в ткань макрофагов при повреждении печени? Как резидентные макрофаги могут влиять на дифференцировку и поляризацию моноцит-производных макрофагов?

3. На основании чего сделан вывод об изначально более высокой фагоцитарной активности костномозговых макрофагов?

4. При анализе данных проточной цитометрии использован только показатель доли окрашенных клеток. Возможно, что сравнение средней интенсивности флуоресценции, особенно в тех случаях, когда 100% клеток окрашены позитивно, могло бы быть более информативным.

Заключение

Диссертационная работа Лохониной А.В. «Сравнительная характеристика иммунофенотипических и функциональных свойств макрофагов эмбрионального и костномозгового происхождения», выполненная под руководством д.м.н., доцента Фатхудинова Т.Х., является научно-квалификационной работой, в которой решена научная задача - охарактеризованы иммунофенотипические, морфологические и функциональные свойства макрофагов из разных источников происхождения. Результаты диссертационной работы имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии, биологии развития и регенеративной медицины.

Диссертационная работа Лохониной А.В. соответствует требованиям пп.9 - 14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 в редакции от 28.08.2017 №1024), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная

биология, цитология, гистология. При этом автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв обсужден и утвержден на межлабораторном семинаре ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 6 от 23 ноября 2020 года).

Ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной физиологии ГНЦ РФ – ИМБП РАН, доктор биологических наук по специальностям 03.03.01 - «Физиология», 03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология

Е.Р.Андреева

123007, г.Москва, Хорошевское ш., 76а
Тел.: +7(499)195-23-01
doc@imbp.ru; <http://www.imbp.ru>

Подпись д.б.н. Андреевой Е.Р. заверяю

Ученый секретарь ГНЦ РФ ИМБП РАН, д.б.н.



М.А.Левинских