

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА
Д 001.004.01 НА БАЗЕ ФГБНУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА»
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК**

аттестационное дело №_____

решение диссертационного совета от «17» декабря 2020 г. № 26
о присуждении Лохониной Анастасии Вячеславовне, гражданке Российской
Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Сравнительная характеристика иммунофенотипических и функциональных свойств макрофагов эмбрионального и костномозгового происхождения» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 08 октября 2020 года (протокол №22) диссертационным советом Д 001.004.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3), сайт организации www.morfolhum.ru, созданном в соответствии с приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Лохонина Анастасия Вячеславовна, 1985 года рождения, в 2007 году окончила ветеринарно-биологический факультет Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина по специальности «Биохимия». В 2019 г. прикреплена к ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» для работы над кандидатской диссертацией по теме: «Сравнительная характеристика иммунофенотипических и функциональных свойств макрофагов эмбрионального и костномозгового происхождения». Лохонина А.В. является научным сотрудником лаборатории регенеративной медицины ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ. Диссертация выполнена на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» и Федерального

государственного бюджетного научного учреждения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Научный руководитель: Фатхудинов Тимур Хайсамудинович - доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по научному развитию ФГБНУ «НИИ морфологии человека».

Официальные оппоненты: 1. Малышев Игорь Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии, заведующий лабораторией клеточных биотехнологий ФГБОУ ВО «Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова», 2. Грачев Алексей Николаевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биологии стромальных клеток опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН Российской академии наук. В положительном отзыве, подписанным Андреевой Еленой Ромуальдовной, доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории клеточной физиологии, указано, что 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, автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

По теме диссертации соискатель имеет 12 работ, опубликованных в

рецензируемых научных изданиях, из них 6 статей в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук, 6 публикаций – в материалах конференций. Все 12 работ Лохониной А.В. написаны в соавторстве, в 8 из них соискатель является первым автором. Общий объем публикаций составляет 73 страницы.

Наиболее значимые работы:

1. Lokhonina A.V., Elchaninov A.V., Fatkhudinov T.Kh., Makarov A.V., Arutyunyan I.V., Grinberg M.V., Glinkina V.V., Surovtsev V., Bolshakova G.B., Goldshtein D.V., Sukhikh G.T. Activated Macrophages of Monocytic Origin Predominantly Express Proinflammatory Cytokine Genes, Whereas Kupffer Cells Predominantly Express Anti-Inflammatory Cytokine Genes. // BioMed Research International. – 2019. – Т. 2019. – С. 1–13. doi: 10.1155/2019/3912142.
2. Elchaninov A.V., Fatkhudinov T.K., Vishnyakova P.A., Lokhonina A.V., Sukhikh G.T. Phenotypical and Functional Polymorphism of Liver Resident Macrophages. // Cells. – 2019. – Т. 8. – С. 1032. doi:10.3390/cells8091032.
3. Лохонина А.В., Покусаев А.С., Арутюнян И.В., Ельчанинов А.В., Макаров А.В., Еремина И.З., Суровцев В.В., Больщакова Г.Б., Гольдштейн Д.В., Фатхудинов Т.Х. Характеристика иммунофенотипа резидентных макрофагов печени и профиля экспрессируемых генов. // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2018. – № 1 (25). – С. 49-60.
4. Лохонина А.В., Ельчанинов А.В., Арутюнян И.В., Покусаев А.С., Макаров А.В., Еремина И.З., Суровцев В.В., Больщакова Г.Б., Гольдштейн Д.В., Фатхудинов Т.Х. Морфофункциональная характеристика макрофагов эмбрионального и моноцитарного происхождения. // Гены & Клетки. – 2018. – Т. XIII. – № 2. – С. 56-62.

Недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в диссертации отсутствуют.

На автореферат поступили отзывы: 1. От доктора медицинских наук, профессора, член-корреспондента РАН, заведующего лабораторией иммунофизиологии и иммунофармакологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН **Б.Г. Юшкова**; 2. От доктора биологических наук, доцента, заведующей лабораторией клеточной биологии отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ "Центральный научно-исследовательский институт туберкулёза" **Ерохиной М.В.**

Отзывы положительные, критических замечания отсутствуют. Отзывы содержат информацию об актуальности настоящего исследования, новизне полученных результатов и значимости их для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа выполнена в полном объеме на высоком научном и методическом уровне, выводы диссертации достоверны и полностью соответствуют поставленным задачам.

Выбор ведущей организации обоснован тем, что в лаборатории клеточной физиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Институт медико-биологических проблем РАН Российской академии наук» в течение многих лет проводятся фундаментальные исследования, посвященные изучению функциональных и молекулярно-биологических особенностей мезенхимальных стволовых и зрелых клеток, в том числе макрофагов, при гипоксических состояниях. **Выбор официальных оппонентов обоснован** тем, что **Малышев Игорь Юрьевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии, заведующий лабораторией клеточных биотехнологий ФГБОУ ВО «Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова» является одним из ведущих специалистов в области изучения особенностей функциональной активности макрофагального звена иммунитета при различных заболеваниях человека.

Грачев Алексей Николаевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биологии стромальных клеток опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации является ведущим специалистом по изучению роли макрофагов, ассоциированных с опухолью, в механизмах развития и прогрессии опухолей.

Диссертационный совет отмечает, что на основании проведенных соискателем исследований решена актуальная научная задача - охарактеризованы иммунофенотипические, морфологические и функциональные свойства эмбриональных макрофагов печени и костномозговых макрофагов периферической крови. Установлено, что клетки разного происхождения и функционального статуса (M1- и M2-макрофаги) – различаются по морфологии, иммунофенотипу, экспрессии генов цитокинов, регулирующих воспаление, секреции сигнальных молекул, фагоцитарной и пролиферативной активности. Показано, что интактные неактивированные (M0) макрофаги костномозгового происхождения характеризуются высокой экспрессией маркеров M1 активации – мембранных белка костимулятора Т-лимфоцитов CD86 и индуцируемой синтазы оксида азота iNOs, эмбриональные макрофаги – маркеров M2 активации – маннозного рецептора CD206. Для макрофагов эмбрионального и костномозгового происхождения характерен разный паттерн экспрессии генов цитокинов, регулирующих воспаление. На *in vitro* модели поляризации показано, что макрофаги костномозгового происхождения обладают большей чувствительностью к интерлейкинам – IL4, IL10 и к ЛПС по сравнению с клетками Купфера. Иммунофенотип и функциональные свойства макрофагов динамически изменяются в зависимости от условий их микроокружения.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что обнаруженный ряд особенностей морфологии, иммунофенотипа, экспрессии генов цитокинов, регулирующих воспаление, секреции сигнальных молекул

расширяет представления о различиях нативных и поляризованных макрофагов эмбрионального и костномозгового происхождения.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования: изолирование и культивирование клеток млекопитающих, иммуноцитохимическое окрашивание, морфометрические методы, световая, флуоресцентная и трансмиссионная электронная микроскопия, проточная цитофлуориметрия, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция в реальном времени; проведены анализ, обобщение, критическая оценка и статистическая обработка данных.

Изложены достоверные результаты сравнительного исследования молекулярно-биологических, иммунофенотипических и функциональных характеристик макрофагов разного происхождения при полярных функциональных состояниях – активации по M1 и M2 иммунофенотипу.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что макрофаги эмбрионального и костномозгового происхождения имеют молекулярно-биологические, иммунофенотипические и функциональные особенности, которые необходимо учитывать при разработке новых подходов к клеточной терапии воспалительных и опухолевых заболеваний человека, основываясь на особенностях в функциональной пластичности макрофагов разного происхождения.

Результаты настоящего исследования используются в учебном процессе 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.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость, использованы современные приборы и

специализированные программы анализа: флуоресцентный микроскоп Leica DM 4000 B с программным обеспечением LAS AF v.3.1.0 build 8587 (Leica Microsystems), проточный цитофлуориметр Cytomics FC 500 с программным обеспечением CXP (BeckmanCoulter), спектрофотометр Multiskan GO (ThermoFisher Scientific), инвертированный микроскоп Zeiss Axiovert 40 CFL с программным обеспечением AxioVs40 4.8.2.0, просвечивающий электронный микроскоп JEM 100CX-II (Jeol, Япония). Статистическую обработку Данные были проанализированы с помощью программы Sigma Stat 3.5 (Systat Software, США).

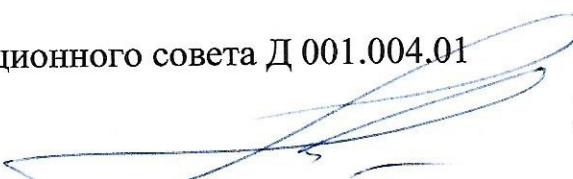
Теория исследования построена на известных данных о том, что макрофаги обладают пластичностью и возможностью активации с образованием провоспалительных M1 макрофагов или противовоспалительных M2 макрофагов; идея базируется на анализе данных других авторов о том, что что макрофаги из разных источников происхождения различаются способностью продуцировать про- или противовоспалительные цитокины, в то время как о чувствительности к разным факторам микроокружения макрофагов эмбрионального и костномозгового происхождения, спектре экспрессируемых генов и секретируемых сигнальных молекул на сегодняшний день в литературе нет единого мнения. Использовано сравнение собственных результатов и данных, полученных ранее другими исследователями по тематике, посвященной изучению макрофагов из разных источников происхождения (эмбриональные и костномозговые) и по функциональным свойствам (M1 или M2). Установлено совпадение полученных результатов с данными, представленными в независимых источниках по изучаемой тематике: обнаружен ряд особенностей морфологии, иммунофенотипа, экспрессии генов цитокинов, регулирующих воспаление, секреции сигнальных молекул и других свойств этих клеток разного происхождения и функционального статуса (M1 и M2). Проведено достаточное для подтверждения выводов количество диагностических исследований.

Личный вклад соискателя состоит в: анализе литературы и определении научной проблемы, планировании исследования и проведении экспериментов, статистической обработке данных, обобщении и анализе полученных результатов, подготовке публикаций.

На заседании 17 декабря 2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Лохониной Анастасии Вячеславовне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за – 15, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета Д 001.004.01

профессор д.м.н.



Л.М. Михалева

Ученый секретарь диссертационного совета Д 001.004.01

д.б.н.



А.М. Косырева

«_18_» __ декабря __ 2020 г.

