

## ОТЗЫВ

официального оппонента

о диссертационной работе Прохоровой Елены Евгеньевны

«ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ ЛЁГОЧНЫХ МОЛЛЮСКОВ»,

представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по

специальности 1.5.12 – Зоология

Диссертационная работа Елены Евгеньевны Прохоровой представляет результаты масштабных экспериментальных исследований, направленных на многоуровневый анализ защитных реакций моллюсков. Работа освещает целое направление, в рамках которого актуальные зоологические проблемы решаются при помощи широкого спектра подходов. Можно сказать, что любые работы, посвященные защитным реакциям беспозвоночных характеризуются актуальностью. Ведь они направлены на исследование весьма общих, можно сказать имеющих общебиологическое значение проблем: проблемы сохранения целостности организма в потоке внешних воздействий и инвазий, проблемы распознавания свое-чужое при помощи клеточных и гуморальных реакций. Добавим к этому эволюционный контекст, поскольку эти проблемы решаются всеми организмами, представляющими разные уровни организации многоклеточных. И если структурные и функциональные принципы работы иммунной системы позвоночных животных исследованы достаточно глубоко, то логика эволюционного усложнения механизмов защитных реакций беспозвоночных еще ждет своего осмысления. Ведь данные о механизмах и эффективности работы защитных систем большинства беспозвоночных просто отсутствуют. А справедливое утверждение об отсутствии системы адаптивного иммунитета у беспозвоночных сразу создает интригу: а как эти разнообразные многоклеточные вообще могут существовать в окружении разнообразных патогенов. С этой точки зрения тематика работы Елены Евгеньевны выглядит вдвойне актуальной, поскольку представляет не набор отдельных сведений о защитных реакциях представителей определенной группы беспозвоночных, а логически цельную и многоуровневую характеристику системы организации иммунитета легочных моллюсков.

В диссертационной работе автор преодолевает постоянную проблему глубоких иммунологических исследований беспозвоночных – критическую нехватку модельных видов. Вводя в анализ шесть видов вторичноводных и наземных легочных моллюсков (плюс виды рода *Biomphalaria* и *Lymnaea stagnalis*, которые и ранее активно исследовались в контексте защитных реакций моллюсков), Елена Евгеньевна проводит предварительное исследование каждого. В результате весь спектр задействованных в работе видов моллюсков используется в цитологической и функциональной характеристике гемоцитов, а *Planorbis corneus* и для получения обширных молекулярно-генетических данных.

Еще одна особенность работы связана с выбором легочных моллюсков как объекта исследования. Вовлеченность этих моллюсков в разнообразные паразитарные системы с трематодами позволяет автору анализировать, помимо общих реакций врожденного иммунитета моллюсков (на бактерии и ксенотрансплантанты) специфические реакции на присутствие различных видов трематод. Заметим, что каждый вид моллюсков может служить промежуточным хозяином нескольких видов трематод. Это открывает возможность сравнительного анализа иммунных реакций одноименного хозяина на присутствие различных паразитов. И этот аспект также присутствует в работе.

Диссертация базируется на огромном фактическом материале, представленном экспериментальными данными по защитным реакциям девяти видов легочных моллюсков. Необходимо особо подчеркнуть

разнообразие методического арсенала работы. Даже простое их перечисление впечатляет: морфо-анатомический, морфометрический анализы, молекулярно-генетическая идентификация видов по целевым генам, филогенетические реконструкции, различные варианты световой и электронной микроскопии, проточная цитофлуорометрия, транскриптомный анализ, определение дифференциальной экспрессии генов, биоинформатические методы, статистическая обработка материала. Перечисленные методические подходы применяются по единому плану зоологического исследования, иллюстрируют его комплексность и многоуровневость. Можно сказать, что перед нами зоологическая работа, выполненная в духе интегративной биологии.

По форме диссертация выглядит фундаментальным произведением; она содержит 445 страниц. Без служебных разделов «Список сокращений», «Словарь терминов», «Список цитируемой литературы» и «Приложения» - это 336 страниц весьма насыщенного текста. Диссертация содержит традиционные, необходимые для квалификационных работ разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы». Раздел «Результаты и обсуждение» подразделен на 4 крупных части с подглавками каждая. Обсуждение результатов по каждой теме помещено непосредственно после изложения результата, что, учитывая широту и разнообразие проблем, затрагиваемых диссертацией, нужно признать удобным. После каждого обсуждения автор помещает промежуточное резюме, обозначенное в тексте курсивом. Финальное заключение после изложения результатов и их обсуждения дает общую картину представлений, сформированных всей проведенной работой.

Мне не удалось найти во всем спектре обсуждаемой литературы каких-либо лакун, позволивших бы говорить о том, что автор оставил за скобками непосредственно относящуюся к обсуждаемой проблеме информацию. Соответственно, рискну сказать об исчерпывающем отражении автором имеющегося в настоящее время информационного задела по проблеме иммунных реакций моллюсков. Отражением этого является объем списка использованной литературы диссертации, который включает 890 источников.

С технической точки зрения рукопись также оформлена хорошо. Развернутые подписи к рисункам и объяснения табличного материала, наличие служебных разделов «Список сокращений», «Словарь терминов», и «Приложение», четкая рубрикация – все это помогает осваивать масштабное произведение. Нельзя сказать, что текст свободен от опечаток, но их концентрация не мешает восприятию текста.

Говоря о качестве представленной работе в целом, необходимо прежде всего отметить два момента.

Во-первых, насыщенность работы качественным иллюстративным и табличным материалом. Этот материал разнороден; иллюстрирует различные уровни исследования. Фотографии, анатомические схемы моллюсков, схемы их ареалов сопровождаются кариограммами хромосом модельных видов, схемами филогенетических реконструкций по целевым участкам ядерной и митохондриальной ДНК, а в некоторых случаях изображениями гистологических срезов и сканограмм радулы.

Светомикроскопические изображения гемоцитов в норме, полученные с использованием различных техник сопровождаются диаграммами и графиками цитофлуорометрических анализов (популяций интактных гемоцитов и в условиях иммунизации), в том числе показывающими фагоцитарную активность гемоцитов, уровня накопления ими митохондриального, лизосомного и ядерного красителей, а также графиками, представляющими продукцию гемоцитами активных форм кислорода.

Локализация и функциональная активность амeboцитпродуцирующих органов представлена гистологическими срезами, графиками динамики активности АПО, схемами цитофлуорометрии активности включения ДНК-связывающих красителей. Достаточно качественные фото

гистологических срезов иллюстрируют реакции гемоцитов на спороцисты, метацеркарии трематод, а также на ксенотрансплантанты. Результаты биоинформатического анализа иллюстрируются схемами предсказанной доменной структуры различных классов патогенраспознающих молекул. Графики иллюстрируют изменение экспрессии отдельных генов *Planorbarius corneus* при заражении трематодами. Наконец, имеются и оригинальные схемы, обобщающие представления автора о протекании иммунного ответа у легочных моллюсков.

Во-вторых, стоит отметить качество изложения материала, которое особенно отчетливо проявляется во вводной части, обзоре литературы и заключительной главе. Здесь, вероятно, проявляются навыки Елены Евгеньевны как преподавателя, привыкшего к логичной подаче информации и свободно владеющего языковыми средствами.

Еще один момент, который стоит отметить, поскольку он имеет существенное значение в оценке работы не просто как весьма трудоемкой и масштабной экспериментальной деятельности, но как взгляд на диссертацию с точки зрения уровня обобщений, так сказать ее «докторского» уровня. Речь о широком эволюционном контексте, в котором Елена Евгеньевна обсуждает все полученные результаты. Структурные и функциональные особенности иммунных реакций легочных моллюсков – от тканевого и клеточного уровня – до разнообразия рецепторов – предстает как один из эволюционных вариантов врожденного иммунитета, эффективно распознающего «образы патогенности» в виде комплексных молекулярных паттернов. В обсуждении проблематики автор приводит многочисленные аналогии (вплоть до отдельных молекулярных элементов) с соответствующими звеньями иммунных реакций позвоночных. В целом все это позволяет ближе подойти к пониманию общих закономерностей эволюции защитных реакций у многоклеточных животных.

Выводы диссертации сформулированы достаточно строго и полностью обоснованы результатами экспериментальных данных.

Ниже формулирую несколько уточняющих вопросов, которые возникли по мере чтения рукописи.

(1) Известна межпопуляционная (внутривидовая) изменчивость защитных реакций *Biomphalaria*. Автор многократно упоминает об этом в рукописи. Однако в диссертации никак не акцентируется внимание на популяционном составе использованных в конкретных экспериментах моллюсков. Насколько они были однородны с точки зрения популяционного состава.

(2) С.178. Не совсем понятно выделение популяции F при использовании разных красителей при цитофлюорометрических исследованиях. По крайней мере в тексте она охарактеризована туманно и неясно чем отличается кардинально от других группировок.

(3) Насколько может быть распространена по мнению автора ситуация «контролируемого молекулярного хаоса» при формировании молекулярных вариантов полиморфных муцинов (описанная у *Biomphalaria*) для всех пульмонат?

(4) К с. 267-268 - можно ли по соотношению гиалино- и гранулоцитов судить о специфичности паразита или о месте его локализации в хозяине?

(5) С. 329. Автор пишет: «Согласно гипотезе «молекулярной маскировки», выживание паразита обеспечивается осаждением на его поверхности молекул из гемолимфы хозяина... Так на поверхности тегумента трематод *Schistosoma mansoni* присутствуют полиморфные муцины (polymorphic mucins, SmPoMuc), которые предотвращают их распознавание иммунной системой моллюсков ...». Вопрос. Разделяет ли автор явления молекулярного маскарада и молекулярной мимикрии и если да, то не является ли этот случай примером молекулярной мимикрии?

(6) Почему в работе никак не обсуждается взаимодействие трематод с нейроэндокринной системой pulmonat (описано на *Lymnaea stagnalis*). Ведь это вроде бы довольно эффективная генерализованная реакция, связанная с иммунитетом непосредственно.

Из напутствий к дальнейшей работе (в части систем моллюски-трематоды) могу только пожелать автору преобразовать хотя бы одну из ее экспериментальных моделей с участием pulmonat в модель «полного цикла», которая позволяла бы дозированно заражать моллюска и отслеживать ход иммунных реакций по мере развития паразитов. То есть, обзавестись собственной моделью «полного цикла», дублирующей «биомфаларную» модель.

Наконец, выскажу единственное замечание по рукописи диссертации. Сравнивая выводы диссертации и защищаемые положения легко прийти к выводу, что в обоих случаях представлены обобщения приблизительно одного уровня. Более того, текстуально положения порой повторяют выводы. Конечно, хотелось бы в «положениях» увидеть более широкие обобщения и, скорее всего, их не должно быть так много. Сделать это было бы вовсе не трудно, хотя бы на основе элементов раздела «Заключение», в котором автор вполне свободно оперирует обобщениями такого уровня.

Очевидно, что поставленные в отзыве вопросы – это скорее инициация дискуссии, а большая его часть отражает очень высокое мнение оппонента о работе диссертанта и ее представлении в рукописи. Автор показал, что его деятельностью сформировано целое научное направление исследований иммунных реакций. Методический уровень экспериментальной работы, уровень анализа материала и концептуальных заключений вполне соответствует критериям диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук.

Таким образом, диссертация Прохоровой Елены Евгеньевны «Иммунные реакции лёгочных моллюсков», соответствует требованиям, предъявляемым работам, представленным на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.12 – Зоология. А сам диссертант заслуживает присвоения ему искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.12 – Зоология.

Текст автореферата в целом полно отражает основное содержание диссертации. Основные результаты обнародованы в публикациях автора (30 статей в журналах, рекомендованных ВАК работ и учебное пособие) по теме диссертации.

Профессор, заведующий кафедрой  
Зоологии беспозвоночных имени В.А. Догеля  
Санкт-Петербургского  
государственного университета,  
доктор биологических наук

25.08.2026

199034, Санкт-Петербург,  
Университетская наб. 7/9,  
тел. 8921951 76 83  
e-mail: a.granovich@spbu.ru

А.И. Гранович

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ  
А. И. Гранович  
ЗАВЕРЯЮ



31.08.26