



УТВЕРЖДАЮ:

ИО-директора ФИЦ ИнБЮМ, к.б.н.

Е.Н. Скуратовская

14 сентября 2026 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федеральный исследовательский центр
«Институт биологии южных морей имени А.О.Ковалевского РАН»
на диссертационную работу
ПРОХОРОВОЙ Елены Евгеньевны
на тему «Иммунные реакции лёгочных моллюсков», представленной на соискание
ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.12 – Зоология
в диссертационный совет Д 003.033.01
на базе ФГБУН «Институт систематики и экологии животных СО РАН»

Актуальность темы

Моллюски представляют собой крупный таксон беспозвоночных, освоивших как водную, так и наземную среды обитания и адаптировавшихся к разнообразным абиотическим и биотическим условиям. Кроме того, за сотни миллионов лет эволюции они приобрели широкий круг паразитов, относящихся к разным систематическим группам. Это объясняет присущий им широкий спектр иммунных реакций и обуславливает их использование в качестве модельных объектов для физиологических, биохимических и экологических исследований.

Несмотря на столетний период изучения «защитных реакций» беспозвоночных, включая моллюсков, до недавнего времени по отношению к ним не только не применялся термин «иммунитет», но и не разрабатывались общие методологические подходы к изучению их иммунных реакций и единая терминология для их описания. Всплеск научного интереса к иммунитету моллюсков произошёл на рубеже веков, когда было показано, что проявление адаптивного иммунитета невозможно без участия клеток врождённого иммунитета, а механизмы иммунных реакций беспозвоночных во многом схожи с таковыми у позвоночных животных.

Смена научных взглядов на природу врождённого иммунитета, а также появление новых экспериментальных подходов к его изучению привело к расширению исследований механизмов иммунитета моллюсков. Однако многие аспекты иммунных реакций моллюсков по-прежнему недостаточно изучены, а имеющиеся сведения фрагментарны, получены на разных объектах различными методами, зачастую противоречивы и плохо систематизированы. Требуется комплексный анализ клеточных и гуморальных

компонентов иммунной системы легочных моллюсков, который позволил бы выявить как общие закономерности, так и видоспецифичные реакции, и сформировать более целостное представление о механизмах их иммунитета.

Таким образом, тема и соответствующая ей цель диссертационного исследования – изучение иммунных реакций лёгочных моллюсков, а именно клеточных механизмов и молекулярных основ их защитных реакций, безусловно, актуальны.

Научная новизна

Новизна, представленных в диссертационной работе Е.Е. Прохоровой результатов, выводов и положений не вызывает возражений. Работа в определенной степени пионерская по нескольким аспектам:

Она выполнена на pulmonataх, иммунитет которых изучен весьма поверхностно;

Впервые анализ клеточных реакций выполнен на природных моделях с использованием различных факторов иммунизации (бактерий, трематод и ксенотрансплантатов) и на основе этих данных показана универсальность основных механизмов клеточного иммунного ответа лёгочных моллюсков;

Автор определил вероятные очаги гемопоэза, что для моллюсков, в целом, остается слабо изученной областью, т.к. бластные формы в их гемолимфе практически не определяются;

Безусловным достоинством работы является определение патоген-распознающих рецепторов (ПРР) у гемоцитов на основе транскриптомного анализа, а также описание первичной и вторичной клеточных реакций на присутствие патогена и участие в них гемоцитов;

Впервые для моллюсков из природных популяций, заражённых разными видами трематод, выполнен анализ экспрессии генов ПРР, а также параллельный анализ экспрессии генов факторов цитотоксичности в гемолимфе и тканях различных органов моллюска и выявлены различия экспрессии ряда генов при инвазии разными видами паразитов.

Впервые выполнен анализ защитных реакций лёгочных моллюсков нескольких видов в контексте современной концепции врождённого иммунитета и выделены общие характеристики системы врождённого иммунитета лёгочных моллюсков.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы определяется вкладом в фундаментальные представления о врождённом иммунитете беспозвоночных. Исследование расширяет знания о клеточных и гуморальных механизмах защиты лёгочных моллюсков, в том числе из природных популяций. Сведения о морфофункциональных характеристиках гемоцитов, организации гемопоэтических структур и динамике клеточного ответа при иммунизации способствуют формированию целостной картины иммунной системы моллюсков. Кроме того, результаты исследования важны для понимания механизмов и путей формирования системы врождённого иммунитета беспозвоночных животных в целом, а разработанные в ходе исследования подходы и методические наработки могут быть применены для изучения иммунитета других таксонов этой группы. Полученные последовательности транскриптома гемоцитов, депонированные в открытых базах данных, могут послужить материалом для сравнительно-иммунологических исследований, что имеет значение для фундаментальной иммунологии и сравнительной патологии.

Практическая значимость обусловлена, прежде всего, тем, что многие виды лёгочных моллюсков – промежуточные хозяева опасных паразитов человека и сельскохозяйственных животных, прежде всего трематод, а их разведение и аквакультура приобретают всё большее значение для обеспечения населения качественными продуктами питания. Понимание механизмов иммунной защиты pulmonat необходимо как для контроля численности моллюсков – переносчиков инвазий, так и для повышения устойчивости культивируемых видов к патогенам. Наконец, результаты и методические наработки диссертации могут быть включены в учебные курсы по зоологии беспозвоночных, цитологии, паразитологии, молекулярной биологии и эволюционной иммунологии.

Краткое содержание диссертации

Рукопись состоит из введения, трёх глав, заключения, выводов, списка сокращений, словаря терминов, списка цитируемой литературы и приложения. Общий объем диссертации составляет 445 страниц, включая 153 рисунка, 51 таблицу и 28 приложений. Список цитируемой литературы содержит 890 источника, в том числе 762 работы на иностранных языках.

Во введении описывается актуальность исследования, цели и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту. Также приводятся сведения об апробации полученных результатов и количестве публикаций диссертанта.

Глава I «Обзор литературы» включает три основных раздела, в которых автор последовательно рассматривает методологические подходы к изучению иммунитета моллюсков, историю развития представлений об их иммунной системе, а также имеющиеся сведения о конституциональных основах и механизмах иммунных реакций.

В первом разделе показано, что современные представления о защитных реакциях моллюсков основаны на результатах изучения небольшого числа модельных видов – в основном, представителях рода *Biomphalaria*, являющихся хозяевами патогенов человека – трематод рода *Schistosoma*, а само их изучение долгое время рассматривалось в контексте разработки мер биологической борьбы с шистосомозами. Рассмотренные методы изучения иммунитета моллюсков условно разделены автором на две основные группы. Первая, описывает подходы, традиционно используемые в иммунологии и клеточной биологии, большая часть из которых разрабатывалась для изучения иммунитета млекопитающих и в отношении моллюсков требует значительной адаптации. Вторая группа – паразитологические методики, разработанные для исследования паразито-хозяйинных отношений моллюсков и трематод. Кроме того, большое внимание уделено обсуждению результатов применения для изучения иммунных реакций моллюсков молекулярно-биологических подходов. Далее в разделе подробно рассмотрены отдельные методики, а также их преимущества и ограничения применения по сравнению с другими методами.

Во втором разделе рассмотрены основные этапы становления современных представлений о врождённом иммунитете беспозвоночных: от определения его как неспецифичной защитной реакции организма до формирования концепции врождённого механизма распознавания патоген-ассоциированных молекулярных паттернов,

являющегося общей чертой систем врождённого иммунитета позвоночных и беспозвоночных животных. Автор показывает, что уже в первых работах клетки моллюска, окружающие паразитов и патогены, рассматривались как типичные фагоциты, а следующим этапом в изучении защитных реакций моллюсков стало описание универсального механизма клеточного ответа – инкапсуляции. При этом было выявлено, что гемоциты способны распознавать «свое» и «чужое». Современный период исследований характеризуется накоплением данных о транскриптомных профилях моллюсков различных видов в ответ на воздействия различных факторов. Однако большая часть исследований выполнена на представителях ограниченного числа модельных видов. Что приводит автора к обоснованному выводу о необходимости исследовать большее число видов для выявления общих закономерностей функционирования иммунной системы лёгочных моллюсков.

В третьем разделе особое внимание автором уделено рассмотрению особенностей организации кровеносной системы, т.к. при отсутствии настоящей лимфоидной ткани у беспозвоночных основой для функционирования иммунитета служат структуры, обеспечивающие циркуляцию клеток-иммуноцитов – целом и кровеносная система. В разделе также проанализированы и обобщены представления о защитных реакциях лёгочных моллюсков (фагоцитоз, формирование агрегаций гемоцитов, инкапсуляция, гуморальный иммунитет, распознавание патогенов), которые в основном сформировались при изучении влияния на них трематодной инвазии. Поскольку ключевым звеном иммунного ответа моллюска являются клетки гемолимфы – гемоциты, в разделе рассмотрены имеющиеся подходы к их морфологической классификации, выполненные с применением различных методов. При этом показано, что в разных работах описывается различное количество типов клеток гемолимфы пульмонат; из-за отсутствия общей классификации и критериев выделения для их обозначения используются разные термины. Автор подчеркивает, что в настоящее время отсутствует общепринятая гипотеза о механизме гемопоэза (образования гемоцитов) у лёгочных моллюсков.

Завершая обзор литературы Прохорова Е.Е. обозначила пробелы в современных знаниях об иммунитете лёгочных моллюсков. К ним относятся: отсутствие единой классификации гемоцитов; недостаток сведений об их функциональных особенностях; отсутствие упорядоченности данных о паттерн-распознающих рецепторах; нехватка информации об иммунном ответе у моллюсков из природных популяций, а также при инфицировании патогенами разной природы.

В главе II «Материалы и методы» подробно охарактеризованы объекты исследования – девять видов лёгочных моллюсков класса Gastropoda, – а также места их сбора, условия содержания и способы иммунизации. Обстоятельно изложены морфологические и молекулярно-генетические подходы к видовой идентификации моллюсков и трематод, включая методы и программы, применённые для филогенетических и филогеографических реконструкций, анализа генетического разнообразия популяций, а также разработанные методики RAPD-анализа и SCAR-маркеры для дифференциации близких видов. Для изучения гемопоэтических структур, клеточной реакции, морфологических и функциональных характеристик гемоцитов задействован широкий арсенал методов световой и электронной (трансмиссионной и сканирующей) микроскопии, а также подходы *in vitro* и *in vivo* (окрашенные препараты, гистологические срезы и др.). Цитофлуориметрический анализ гемолимфы выполнен на

проточных цитометрах; протоколы пробоподготовки, способы обработки полученных данных и визуализации результатов также детально описаны. Для оценки экспрессии генов факторов защитных реакций моллюсков применён метод ПЦР в режиме реального времени, детали которого приведены достаточно полно. Анализ транскриптомов выполнен с использованием биоинформатического подхода.

Представленные данные свидетельствуют о том, что применённые в работе методы разнообразны, соответствуют современному уровню исследований в данной области, их выбор обусловлен задачами работы и обеспечивает получение достоверных результатов.

Глава III. Результаты и обсуждение включает четыре основных раздела.

В первом разделе дана подробная характеристика морфофизиологических, экологических и генетических особенностей 9 видов пульмонат – модельных объектов для изучения иммунных реакций лёгочных моллюсков и обоснован их выбор. Используемые в исследовании моллюски относятся к различным семействам и экологическим группам, а также взяты как из природных популяций, так и из лабораторных линий, что является несомненным достоинством работы, так как позволяет проанализировать как универсальные, так и специфичные особенности характеристик иммунной системы пульмонат.

Во втором разделе приведены результаты изучения морфофункциональных характеристик гемоцитов – специализированных клеток врождённого иммунитета лёгочных моллюсков. Морфологический и цитометрический анализ разных видов пульмонат подтвердил деление гемоцитов на два основных типа – гранулоциты и гиалиноциты, однако их морфологические параметры сильно варьируют, часть клеток имеет промежуточный морфотип, а надёжные признаки для различения типов отсутствуют. Показано, что соотношение и морфология гемоцитов различаются у разных видов и могут меняться при инкубировании; биохимические маркеры и антитела также не позволяют их разделить. На основании этих результатов автор делает вывод, что гиалиноциты и гранулоциты – полиморфные типы без чёткой границы, вероятно представляющие варианты клеток единой линии на разных этапах дифференцировки и специализации. Установлено также, что по функциональным характеристикам (продукция АФК, фагоцитоз, подвижность) гранулоциты более активны. Кроме того, показано, что численность гемоцитов в циркуляции и соотношение гранулоцитов и гиалиноцитов видоспецифичны и сильно варьируют внутри вида; доля гранулоцитов растёт с увеличением размера моллюсков и при иммунизации. Важным аспектом работы стало выявление и описание гемопоэтической структуры у четырёх модельных видов моллюсков. Такой структурой является амёбоцит-продуцирующий орган (АПО), расположенный вблизи почки и приуроченный к перикардиальному эпителию. Таким образом, автор подтвердил, что АПО, очевидно, универсальный источник гемопоэза пульмонат.

В третьем разделе рассматривается механизм распознавания чужеродного в системе врожденного иммунитета моллюсков, в котором ключевую роль играют паттерн-распознающие рецепторы (ПРР), определяющие особенности иммунного ответа на разные патогены. В транскриптоме гемоцитов *Planorbarius corneus* определено 1776 транскриптов, кодирующих ПРР, – более половины всех иммуно-ассоциированных транскриптов. ПРР этого и других моллюсков относятся к тем же классам, что и у позвоночных, однако доменный состав ряда предсказанных ПРР оказался уникален и

ранее не описан у других животных. Для систематизации ПРР лёгочных моллюсков автор предложил перекрёстную классификацию по набору доменов, помогающую прогнозировать функции белков с новыми их сочетаниями. Таким образом, установлено, что разнообразие ПРР моллюсков превосходит таковое у позвоночных, что объясняется автором тем, что при отсутствии у пульмонат специфических антиген-распознающих рецепторов расширение спектра распознаваемых лигандов достигается за счёт увеличения вариантов ПРР.

В четвёртом разделе рассматриваются основные иммунные реакции лёгочных моллюсков. Универсальным механизмом уничтожения многоклеточных патогенов считается инкапсуляция: выявленные капсулы вокруг ксенотрансплантата, партенит и метацеркарий трематод морфологически схожи, что согласуется с прежними описаниями многослойных гемоцитарных капсул у пульмонат. Показано, что первые признаки клеточной реакции появляются уже через 6 ч после иммунизации, тогда как активация гемопоэза в АПО начинается лишь через сутки. На этом основании автор делает вывод, что на этом этапе задействованы гемоциты из окружающих тканей, которые мигрируют из циркуляции и скапливаются вокруг патогена, приводя к его изоляции. Это явление описывается как первичная клеточная реакция. Если первичной реакции недостаточно для элиминации патогена, запускается вторичная клеточная реакция, связанная с активацией гемопоэза. Это проиллюстрировано динамикой клеточного состава гемолимфы моллюсков при иммунизации бактериями, которая совпадает по срокам с развитием первичной и вторичной реакций при заражении трематодами и с активацией гемопоэза у биомфалий. Установлено, что в ходе клеточной реакции, вероятно, происходит функциональная специализация гемоцитов, включая переход части клеток с морфологией гиалиноцитов в гранулоцитарную фракцию; соотношение гемоцитов различается и у моллюсков, заражённых разными видами трематод. Анализ экспрессии генов факторов иммунного ответа также указывает на избирательную регуляцию их активности при заражении разными патогенами.

Разделы диссертации связаны между собой, экспериментальный материал систематизирован, результаты исследований аргументированы, научно обоснованы. Следует отметить, что результаты и их анализ во всех разделах рукописи диссертации прекрасно проиллюстрированы графиками, фотографиями и схемами.

В Заключение и 9 выводах Прохорова Е.Е. обобщила и сформулировала основные результаты диссертационного исследования, которые свидетельствуют об успешном окончании работы, решении поставленных задач и достижении заявленной цели.

Автореферат отражает основное содержание диссертации, изложен с соблюдением требований, предъявляемых ВАК Минобрнауки РФ к авторефератам диссертаций.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов

Диссертант показывает весьма хорошую теоретическую подготовку и владение имеющейся в современной научной периодике информацией. Это видно из характера анализа полученных материалов, качества аргументации, логических схем. Все полученные результаты и сформулированные выводы обоснованы и базируются на большом объеме первичных данных, которые проанализированы с использованием

современных подходов. О надежности заключений и выводов свидетельствует также весьма широкий методический арсенал, применяемый в диссертационной работе. Используемые методы статистической обработки цифровой информации адекватны поставленным задачам и в достаточной степени иллюстрируют выявленные в работе эффекты и закономерности. Положения, выносимые на защиту, логически вытекают из содержания диссертационной работы и обоснованы.

Все основные положения работы апробированы на конференциях, представлены в 30 статьях, опубликованных в рецензируемых журналах из перечня ВАК, в т.ч. включенных в международные наукометрические базы.

Личный вклад автора

Диссертант непосредственно принимал участие во всех этапах представленной к защите работы, начиная с определения цели и задач исследования, сборе материала и получение основных результатов, статистической обработке и анализе полученных данных до формулировки положений и выводов, написания и публикации статей, представления результатов на конференциях, написания и оформления рукописи диссертации.

Замечания, рекомендации, вопросы

1. Второе положение, выносимое на защиту, носит крайне общий характер и подходит для организмов различного систематического положения. Защита его не требуется.
2. Гранулоциты могут содержать включения различные по составу, сродству к кислым и основным красителям (базофильная, эозинофильная, ацидофильная), то есть среди них возможна функциональная специализация. Это отмечается в ряде работ, выполненных на двустворчатых моллюсках. Как автор учитывал эту особенность в своей работе?
3. С чем связана более выраженная фагоцитарная активность у гранулоцитов по отношению к гиалиноцитам?
4. В ряде исследований выделяют полугранулоциты, большие и малые гиалиноциты, которые имеют не только морфологические, но и функциональные отличия. Наблюдал ли автор подобные типы клеток в гемолимфе у изученных им видов?
5. Правильно ли мы понимаем, что гиалиноциты и гранулоциты – это одна клеточная линия (вывод 2)? Гиалиноциты являются менее дифференцированной формой, но со специфической функциональной активностью, которая востребована в иммунном ответе. Поэтому данный тип клеток присутствует в гемолимфе, но, в принципе, может дифференцироваться до гранулоцитов. Гуморальный компонент иммунного ответа при этом в основном передается соматическим тканям (гепатопанкреас, белковая железа, сердце и др.). Если это так, то это противоречит имеющейся информации, так как многие гуморальные факторы продуцируются именно гемоцитами, а ведущая роль при этом принадлежит гиалиноцитам.
6. Чем определяется более высокое разнообразие патоген-распознающих рецепторов у гемоцитов моллюсков по отношению к позвоночным?
7. Целесообразно было бы дифференцировать исходные группы моллюсков по степени зараженности трематодами. Это позволило бы снизить вариабельность получаемых результатов по числу гемоцитов в гемолимфе и их соотношению.
8. Автор делает вывод, что набор патоген-распознающих рецепторов лёгочных моллюсков является видоспецифическим признаком. В то же время в работе

отсутствует сравнение с ПРР других моллюсков. Отмечается лишь, что были выявлены гены, не идентифицированные ранее. Было бы интересно посмотреть, насколько различаются варианты доменной структуры патоген-распознающих рецепторов и молекул адгезии у разных видов пульмонат.

9. Один из выводов работы заключается в том, что при заражении патогенами разных видов наблюдается разная динамика клеточных реакций и экспрессии генов факторов иммунного ответа. Проводил ли автор сравнение полученных транскриптомных данных с данными, доступными в NCBI (для моллюсков рода *Biomphalaria* и *Vulinus* есть транскриптомные данные по заражению шистосомами), для анализа паттернов экспрессии генов факторов иммунного ответа?

Общее заключение

Представленная работа – оригинальное, законченное исследование, в ходе которого автором успешно достигнута поставленная цель, решены все задачи, сделаны принципиально важные выводы, расширяющие и углубляющие наши знания в рамках зоологии. Результаты проведенной работы широко апробированы на многочисленных профильных конференциях и совещаниях, представлены в публикациях, включая статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК РФ, а также индексируемые в международных базах данных. Диссертационная работа полностью соответствует всем критериям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор – Прохорова Елена Евгеньевна – заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.12 - Зоология.

Отзыв на диссертационную работу Е.Е. Прохоровой был обсужден и одобрен на расширенном заседании отдела экологической паразитологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А.О.Ковалевского РАН» (протокол №5 от 07 сентября 2026 г.).

Отзыв подготовили:

Главный научный сотрудник, руководитель
отдела физиологии животных и биохимии
ФИЦ ИнБЮМ, доктор биол. наук, профессор



Солдатов Александр
Александрович

Ведущий научный сотрудник, руководитель
отдела экологической паразитологии
ФИЦ ИнБЮМ, к.б.н.



Дмитриева Евгения
Вениаминовна

Старший научный сотрудник
отдела экологической паразитологии
ФИЦ ИнБЮМ, к.б.н.



Водясова Екатерина
Александровна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный
исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А.О.Ковалевского
РАН» (ФИЦ ИнБЮМ).

Адрес: 299011, г. Севастополь, пр-т Нахимова, д.2

Телефон: +7 (8692) 54-41-10

факс: +7 (8692) 55-78-13

E-mail: ibss@ibss-ras.ru

Сайт <https://ibss-ras.ru/>

14.09.2026

Подписи Солдатов А.А., Дмитриевой Е.В., Водясовой Е.А.

Заверяю

Ученый секретарь ФИЦ ИнБЮМ,
к. с.-х. наук



Чекмарёва Т.М.