

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации (Минобрнауки России)

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИНЦ РАН)**

194064 Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4
тел. (812) 297-18-34, эл.адрес: cellbio@incras.ru; <https://incras.ru/>

01.11.2025 № 12316-662-357

На № 15345-23-09/9 от 01.09.2025

«УТВЕРЖДАЮ»



Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института цитологии
Российской академии наук

чл.-корр. РАН

А.Н. Томилин

«01» ноября 2025 года

ОТЗЫВ

ведущей организации — Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук —
на диссертационную работу Медведевой Снежанны Сергеевны на тему:
«Особенности нарушения эпителиального барьера толстого кишечника на мышинных моделях хронического колита», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – Клеточная биология

Знакомство с диссертационной работой С.С. Медведевой оставило весьма благоприятное впечатление благодаря добротности её исполнения в целом, актуальности выбранной темы, целостности проведенного исследования, его законченности в рамках поставленных задач, результатам, не вызывающим сомнений в их достоверности, а выводам — в их аргументированности. Не вызвало особых нареканий и оформление работы и автореферата; текст диссертации написан хорошим и легко читаемым научным языком. Автореферат полностью соответствует содержанию представленной диссертации.

Актуальность темы диссертационной работы

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), включая хронический колит, являются рецидивирующими заболеваниями, которые могут длиться всю жизнь, существенно снижая её качество у пациентов и даже способствуя созданию протуморогенной среды при длительном воспалении. Нет сомнений, что познание фундаментальных основ, лежащих в основе патофизиологии ВЗК, тонких механизмов

регуляции проницаемости кишечного эпителия на клеточном и молекулярно-генетическом уровнях, способствует разработке новых терапевтических стратегий с долгосрочным эффектом, а не только направленных на краткосрочное облегчение клинических симптомов и достижение временной ремиссии. Вот почему актуальность диссертационного исследования С.С. Медведевой, посвященного анализу нарушений эпителиального барьера толстого кишечника при хроническом колите у экспериментальных (модельных) животных, сомнений не вызывает, в том числе в связи с популярностью ставших модными в последнее время диет на основе белков и жиров.

Научная новизна исследования, достоверность и обоснованность научных результатов

Диссертационная работа С.С. Медведевой отличается изрядной долей научной новизны, которая состоит, в частности, в сопоставлении двух экспериментальных моделей — генетической (нокаутные мыши *Muc2^{-/-}*) и химической (мыши с DSS-индуцированным хроническим колитом), что позволило выделить общие цитологические характеристики проницаемости кишечного барьера. Получены новые данные о существенном нарушении локализации белков плотных и адгезивных эпителиальных контактов, а также архитектуры актинового цитоскелета при хроническом воспалении; об изменении метаболомного профиля крипт толстой кишки на фоне воспаления, вызванного дефицитом муцина-2, который в норме формирует защитный слизистый барьер. Несомненной новизной является комплексный подход к проблеме, свидетельством чему служит, в частности, использование для достижения цели исследования множества разнообразных методических подходов — начиная от иммунофлуоресцентной и электронной микроскопии и заканчивая анализом метаболома.

Проведённая в ходе знакомства с диссертацией С.С. Медведевой оценка достоверности результатов и обоснованности сделанных ею выводов показала, что все экспериментальные результаты диссертантом получены на сертифицированном оборудовании, при этом выбор адекватных методов обоснован спецификой исследования и полностью соответствует поставленным в работе задачам. Выявлено соответствие авторских результатов с данными, представленными в независимых источниках по тематике исследования.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа С.С. Медведевой построена по традиционному плану, изложена на 116 страницах машинописного текста, содержит 18 рисунков (из них 14 относятся к результатам — глава 3 «Экспериментальная часть»), 2 таблицы (разд.

«Материалы и методы» и состоит из следующих разделов: Введение (9 с.); глава 1 — «Обзор литературы» (24 с.); глава 2 — «Материалы и методика экспериментов» (14 с.); глава 3 — «Экспериментальная часть», представляющая собой результаты (22 с.); глава 4 «Обсуждение результатов» (17 с.); и Заключение (1 с.), в конце которого сформулировано 5 выводов. Список цитированной литературы насчитывает 294 наименования.

В разделе «**Введение**» сформулированы актуальность, значимость и новизна диссертационной работы, ее цель и задачи; сформулированы положения, выносимые на защиту.

Раздел «**Обзор литературы**» свидетельствует о высокой научной эрудиции автора, охватывает широкий спектр литературных источников, в том числе последних лет. Иллюстрации (схемы), приведенные в этом разделе, чёткие, наглядные; все подписи к ним переведены на русский язык — за это автор заслуживает специальной похвалы. Важно отметить, что обзор носит не реферативный, а аналитический характер. Обращает внимание логичность его построения, и ёмкость изложения. В нём достаточно полно обсуждены все необходимые аспекты, так или иначе связанные с темой диссертации: строение кишечного эпителия и белки, формирующие межклеточные контакты разных типов; различные по своей природе модели, позволяющие изучать эпителиальный барьер кишечника и экспериментально индуцировать воспалительные заболевания; особенности метаболизма липидов при воспалении. Благодаря чёткому и ёмкому заключению обзор литературы обретает законченность.

Глава «**Материалы и методика экспериментов**» (Материалы и методы) свидетельствует о высоком профессионализме диссертанта в качестве экспериментатора, владеющего широким спектром современных методов клеточной биологии, как-то: выделение и культивирование эксплантатов и органоидов толстой кишки; иммуногистохимия на криосрезах; трансмиссионная электронная микроскопия; иммуноблоттинг; количественная ПЦР в реальном времени; метод оценки биоэнергетических профилей клеток (потребления кислорода); функциональные тесты проницаемости кишечника и сферических органоидов; метод оценки метаболома с помощью жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (LC-MS/MS).

Все методики, освоенные и использованные диссертантом, адекватны поставленным задачам; они описаны подробно, грамотно, позволяя при необходимости воспроизвести эксперименты. К целесообразности использования конкретного метода автор подходит критически. В следующем разделе диссертации, дано, например, чёткое объяснение, почему метод культивирования органоидов не подходит для исследования нарушений эпителиального барьера у нокаутных мышей $Muc2^{-/-}$.

В главе «**Экспериментальная часть**» (Результаты) подробно изложены все этапы экспериментальной работы, которые проиллюстрированы наглядными высококачественными иллюстрациями. Последовательность изложения результатов проведенных экспериментов логична и формирует ясное представление о том, для чего и как проводили ту или иную часть исследования, как подбирали экспериментальные модели для решения конкретной задачи исследования, какие контрольные эксперименты проводили. Представленный материал обширен, хорошо документирован, и, как уже отмечено выше, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Диссертантом установлено, что при хроническом воспалении (оценка проведена на моделях, различающихся природой эффекта) изменяется локализация ключевых белков плотных и адгезивных эпителиальных контактов, а также нарушается архитектура актинового цитоскелета. Показано, что пространственная организация белков плотных и адгезивных контактов зависит от баланса между мономерной и полимерной формами актина. Установлено, что частичное восстановление нормального паттерна клаудина-7, одного из ключевых белков плотных межклеточных контактов, а также β -катенина — важного передатчика сигналов в пути Wnt и посредника между кадгерином и F-актином в системе клеточной адгезии (адгезионных контактах), может быть достигнуто подавлением церамидсинтаз. Установлено, что на фоне хронического воспаления изменяется метаболомный профиль крипт толстой кишки экспериментальных (модельных) животных, которые обогащаются фосфолипидами и сфинголипидами. Все вместе полученные результаты многочисленных и разнообразных экспериментов существенно расширяют имеющиеся представления о фундаментальных клеточных механизмах, лежащих в основе нарушения барьерной функции кишечника при хроническом воспалении.

Глава «**Обсуждение результатов**» имеет непротиворечивый характер, демонстрируя умение автора анализировать большой объем источников и правильно интерпретировать собственные наблюдения в свете имеющихся представлений.

Сравнение собственных данных и результатов, полученных ранее по рассматриваемой тематике, диссертант начинает с обсуждения того, что органоиды, полученные из толстой кишки нокаутных мышей *Muc^{2-/-}*, не воспроизводят установленное *in vivo* нарушение субклеточной локализации клаудина-7. Как вывод, С.С. Медведева справедливо отмечает необходимость критического подхода к использованию органоидов в качестве моделей *in vitro* при исследовании ВЗК. Критическую оценку со стороны диссертанта получило и использование эксплантов и выделенных крипт толстой кишки — прежде всего в отношении времени культивирования; автор доказывает, что экспланты

кишечника могут быть использованы в качестве надёжной модели лишь в ходе краткосрочных исследований эпителиального барьера, а крипты вообще не являются оптимальным объектом для этого. Кроме того, диссертант подробно обсуждает наблюдаемые при ВЗК и в моделях воспаления изменения экспрессии и локализации белков клеточных контактов, отмечая при этом, что существенный пласт работ в этом отношении касался острого, а не хронического воспаления, в чём снова видится очевидное достоинство проведённого автором исследования.

Этими двумя примерами, по-видимому, стоит ограничиться, поскольку в настоящем исследовании представлено на самом деле глубокое исчерпывающее обсуждение полученных результатов, что выгодно отличает работу С.С. Медведевой от множества иных научно-квалификационных работ данного уровня. Это обстоятельство следует отметить особо.

В заключительной части диссертации С.С. Медведева чётко суммирует основные полученные результаты и достижения, подчёркивая, что они служат ключом к поиску новых путей коррекции нарушений кишечного барьера у пациентов с ВЗК и другими заболеваниями, сопровождающимися такими нарушениями (с. 97). С этим невозможно не согласиться.

Значимость результатов для науки и практики

Результаты представленного диссертационного исследования вносят вклад в фундаментальные представления о клеточных процессах, лежащих в основе хронического воспаления кишечника. Научно-теоретические разработки, содержащиеся в диссертационной работе С.С. Медведевой, рекомендуется внедрить в работу научно-исследовательских подразделений учреждений, подведомственных Минобрнауки РФ, соответствующих кафедр биологических и медицинских факультетов университетов, а также в методические разработки и учебные курсы для студентов и аспирантов, специализирующихся в области клеточной биологии и фундаментальной медицины.

Критические замечания и вопросы для дискуссии

Диссертационная работа С.С. Медведевой не вызывает принципиальных возражений, которые могли бы как-то повлиять на её положительную оценку. Те же вопросы и замечания, которые приведены в данном отзыве, носят исключительно дискуссионный или редакционно-технический характер.

Вопросы для дискуссии (они вызваны исключительно научным любопытством составителя отзыва).

1. В обзоре литературы (с. 33–34) диссертант отмечает, что в качестве одного из агентов, индуцирующих колит у модельных лабораторных животных, используют каррагинан — природный загуститель, гелеобразователь, являющийся в России разрешённой, в том числе в детском питании, пищевой добавкой (E407). Несмотря на то что в работе использованы отличные от этой модели, какова релевантность модели каррагинан-индуцированного колита и каково мнение диссертанта относительно безопасности и отдалённых последствий использования этого соединения в пищевой промышленности.

2. Какова жизнеспособность нокаутных мышей с генотипом *Muc2*^{-/-}? Способны ли они давать потомство? Контролировали как-то дополнительно эффект нокаута гена *Muc2*, кроме использования мышей *Muc2*^{+/+} из того же помёта?

Среди незначительных **дополнительных вопросов и замечаний** возникли следующие.

1. Название главы 2 «...методика экспериментов» представляется не очень удачным, поскольку может быть либо методика, использованная для оценки результатов эксперимента, либо дизайн эксперимента.

2. В этой же главе (с. 43) автор пишет: «Для оценки динамики воспалительного процесса животных взвешивали дважды в неделю». Насколько масса тела может отражать динамику воспалительного процесса? Есть ли сведения об изменении веса по ходу развития воспаления? У всех ли животных была одинаковая динамика массы тела? Проводили ли исключение животных из эксперимента, если динамика была другой? Почему не проводили (или проводили?) клинический анализ крови, учитывая СОЭ, общее количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу?

3. Определённые нарекания вызывает оформление списка цитированной литературы, в котором приведены неполные выходные данные источников, в частности, отсутствуют указания на номера страниц статьи или Article ID, если статья опубликована в электронном издании.

4. Неудачным представляется формулировка «жизнеспособность крипт снижается, о чём свидетельствует проникновение красителя DAPI в ядра крипт» (подпись к рис. 7, с. 60; выделено рецензентом. — Д.Б.), поскольку DAPI по большому счёту универсальный ядерный краситель. Хотя идея автора в целом понятна, подобного рода фраза может вводить в заблуждение. Кроме того, крипты — это группы клеток, поэтому выражение «ядра крипт» звучит некорректно.

5. Описание методики трансмиссионной электронной микроскопии (с. 49) содержит лексическую ошибку: в растворе тетроксид осмия материал не контрастируют, как пишет автор, а фиксируют; контрастируют ультратонкие срезы — например, уранилацетатом и цитратом свинца. Кстати, не указано, какие использованы контрастёры и не описана процедура контрастирования.

6. Там же имеется ещё одна неточность: можно подумать, что после дегидратации в серии этанола возрастающей концентрации материал из абсолютного спирта сразу помещали в смолу; этого быть не может, поскольку Эпон 812 не растворима в спирте смола. Какое промежуточное соединение использовали в ходе пропитки? Следует отметить, что, судя по приведённым в работе микрофотографиям ультраструктуры клеток, качество фиксации и пропитки материала для электронной микроскопии хорошее.

7. Слишком категоричным выглядит утверждение (с. 75) о том, что «*введение фумонизина В1 способствует восстановлению структуры F-актина в эпителии толстой кишки животных ... Muc^{2-/-}*». Судя по рис. 17, речь идёт лишь о **частичном** восстановлении.

8. В качестве пожелания можно указать на то, что было бы полезно оценивать изменение клеточного состава изучаемой ткани в процессе воспаления в разных схемах опыта, например, процент тучных клеток, которые принимают участие в воспалительных процессах и о которых диссертант упоминает только в обзоре литературы.

Все отмеченные в отзыве недочёты, пожелания и замечания ни в коей мере не затрагивают существа представленной диссертационной работы, не влияют на её высокую научно-теоретическую и практическую значимость и не должны приниматься во внимание при проведении экспертной оценки в ходе публичной защиты.

Заключение

На основании вышеизложенного считаем, что диссертация Медведевой Снежанны Сергеевны «Особенности нарушения эпителиального барьера толстого кишечника на мышинных моделях хронического колита» является законченной в рамках поставленных задач научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенного автором исследования получены новые данные в области клеточной биологии и достигнуто решение задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний. Диссертация написана автором самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты, и свидетельствует о личном вкладе автора диссертации в науку. Основные научные результаты диссертации опубликованы в рецензируемых научных изданиях.

Таким образом, рассматриваемая диссертационная работа полностью соответствует критериям, установленным п. 9 «Положения о присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Медведева Снежанна Сергеевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – Клеточная биология (биологические науки).

Отзыв подготовлен главным научным сотрудником Лаборатории морфологии клетки Института цитологии РАН доктором биологических наук Боголюбовым Дмитрием Сергеевичем, заслушан и обсужден на научном семинаре Лаборатории морфологии клетки ИНЦ РАН 15 октября 2025 г. (протокол № 4).

Главный научный сотрудник
с возложением обязанностей заведующего
Лабораторией морфологии клетки
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН)
доктор биологических наук

БОГОЛЮБОВ Дмитрий Сергеевич

