

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 68.1.002.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
«ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-
БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ
УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 04.06.2025 г. № 13/2025

О присуждении Линге Ирине Андреевне, гражданке Российской Федерации, учёной степени доктора биологических наук. Диссертация «Роль нейтрофилов и В-лимфоцитов в иммунном ответе на микобактерии у мышей с различной генетически обусловленной чувствительностью к инфекции» по специальности «3.2.7 Иммунология» принята к защите 28.02.2025 г. (протокол заседания № 7/2025) диссертационным советом 68.1.002.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24, приказ о создании диссертационного совета № 206/нк от 14.02.2023 г.

Соискатель Линге Ирина Андреевна, 23 июня 1983 года рождения, в 2005 году окончила Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Клеточные механизмы иммунного ответа на вакцину VCG у мышей линии CBA/N-xid» защитила в 2009 году в диссертационном совете Д 001.007.01, созданном на базе Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Российской академии медицинских наук.

Работает в должности ведущего научного сотрудника лаборатории иммуногенетики отдела иммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Центральный научно-исследовательский

институт туберкулеза» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (ФГБНУ ЦНИИТ Минобрнауки России).

Диссертация выполнена в лаборатории иммуногенетики отдела иммунологии ФГБНУ ЦНИИТ Минобрнауки России.

Научный консультант – доктор биологических наук, профессор Апт Александр Соломонович, ФГБНУ ЦНИИТ Минобрнауки России, отдел иммунологии, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией иммуногенетики.

Официальные оппоненты:

Купраш Дмитрий Владимирович – доктор биологических наук, профессор, профессор РАН, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН), Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, лаборатория передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии, заведующий лабораторией;

Сапожников Александр Михайлович – доктор биологических наук, профессор, ФГБУН ГНЦ «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отдел иммунологии, лаборатория клеточных взаимодействий, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории;

Шитиков Егор Александрович – доктор биологических наук, ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина» Федерального медико-биологического агентства, лаборатория молекулярной генетики микроорганизмов, заведующий лабораторией; –

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Федеральной службы по надзору в

сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном Шмелевой Еленой Александровной, доктором биологических наук, профессором, главным научным сотрудником лаборатории биологии бифидобактерий, и утвержденном и.о. директора Института доктором медицинских наук, профессором Борисовой Ольгой Юрьевной, указала, что «диссертационная работа И.А. Линге «Роль нейтрофилов и В-лимфоцитов в иммунном ответе на микобактерии у мышей с различной генетически обусловленной чувствительностью к инфекции» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как крупное научное достижение в области иммунологии: показана негативная роль нейтрофилов при туберкулезе (ТБ) и вакцинации BCG против ТБ; продемонстрировано, что легочные В-лимфоциты, образующие В-фолликулы в легком, осуществляют защитные функции при ТБ, что проявляется в продукции специфических к микобактериальным антигенам антител непосредственно в легком, участии в своевременном формировании специфического к микобактериям ответа Т-лимфоцитов, регуляции нейтрофильного воспаления и сдерживании инфекции; экспериментальные данные, полученные на мышах с генетически обусловленной оппозитной чувствительностью к *M. tuberculosis* и *M. avium*, указывают на возможные механизмы сдерживания или прогрессирования инфекции у пациентов и позволяют выявить, какие новые параметры следует рассматривать при диагностике и оценке эффективности лечения, а также служат основой для разработки таргетных препаратов, направленных на тонкое регулирование воспаления, при таких опасных заболеваниях, как ТБ и микобактериозы.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в

редакции постановления Правительства РФ от 30.07.2014 г. № 723, от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. №426, от 11.09.2021 г. №1539, от 26.09.2022 г. №1690, 26.01.2023 г. №101, 18.03.2023 г. №415, 26.10.2023 г. №1786, от 26.01.2023 г. №101, от 25.01. 2024 № 62, от 16.10.2024 №1382)), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология».

Соискатель имеет 55 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 36 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 20 работ, а также 15 публикаций в материалах научных конгрессов и конференций и 1 глава в монографии. В диссертации и автореферате отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах. 20 статей общим объемом 196 стр. опубликованы в рецензируемых журналах «Инфекция и иммунитет», «Биохимия», «Туберкулез и болезни легких», «Иммунология», «Immunology», «Frontiers in Immunology», «The Journal of Immunology», «Tuberculosis (Edinb.)», «PLoS ONE», «Int. J. Mol. Sci.», «Infect Genet Evolution». Авторский вклад составляет 80%.

Наиболее значительные научные работы по теме диссертации:

1. Tsareva A., Shelyakin P.V., Shagina I.A., Myshkin M.Y., Merzlyak E.M., Kriukova V.V., Apt A.S., Linge I.A., Chudakov D.M., Britanova O.V. Aberrant adaptive immune response underlies genetic susceptibility to tuberculosis. *Front. Immunol.* 2024, 15:1380971.
2. Linge I., Kondratieva E., Apt A. Prolonged B-lymphocyte-mediated immune and inflammatory responses to tuberculosis infection in the lungs of TB-resistant mice. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24 (2): 1140.
3. Linge I., Tsareva A., Kondratieva E., Dyatlov A., Hidalgo J., Zvartsev R. and Apt A. Pleiotropic effect of IL-6 produced by B-lymphocytes during early phases of adaptive immune responses against TB infection. *Front. Immunol.* 2022, 13: 750068.

На диссертацию и автореферат Линге И.А. поступили отзывы из Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный

исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отзыв составлен доктором биологических наук, профессором, заместителем директора по научной работе Прониным А.В.; ФГБУН ГНЦ «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отзыв составлен доктором биологических наук, профессором, главным научным сотрудником Ю.Б. Лебедевым.

Отзывы положительные, замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией в области исследований, представленных в диссертационной работе, и отсутствием совместных работ и договорных обязательств с соискателем.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработана научная концепция действия нейтрофилов и В-лимфоцитов при микобактериальных инфекциях, что расширяет знания в данной области и служит теоретическим основанием идентификации маркеров тяжести течения и/или эффективности лечения микобактериальных заболеваний;

- предложены оригинальные научные суждения о неравнозначном действии нейтрофилов и В-лимфоцитов при заражении микобактериями животных с различной генетически обусловленной чувствительностью;

- доказана закономерность развития нейтрофил-ассоциированного воспаления в отсутствие В-лимфоцитов (В-клетки тормозят миграцию нейтрофилов), а также закономерность усугубления течения инфекции при разрушении структур В-фолликулов в легких при ТБ;

- введено изменение трактовки нейтрофильного воспаления, возникающего в ответ на микобактерии: нейтрофилы являются патогенетическим фактором, что препятствует формированию эффективного иммунного ответа при заражении ТБ и вакцинации BCG против ТБ.

Теоретическая значимость исследований подтверждается тем, что:

- доказаны положения о роли нейтрофилов и В-лимфоцитов при микобактериальных инфекциях у животных с различной генетически обусловленной чувствительностью к инфекции. Эти данные вносят вклад в расширение знаний о действии В-лимфоцитов при внутриклеточных бактериальных инфекциях и о патогенетической роли нейтрофилов при ТБ и вакцинации BCG против ТБ;

- применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных иммунологических, молекулярно-генетических, биохимических методик, в том числе выделения, культивирования и стимуляции клеток, методов иммуногистохимии и иммунофлуоресценции, проточной цитометрии, иммуноферментного анализа, ядерного магнитного резонанса, ПЦР в реальном времени, секвенирования тотальной РНК и биоинформатических методов анализа, использование моделей ТБ, микобактериоза и вакцинации BCG против ТБ на мышах с различной генетически обусловленной чувствительностью к инфекции, в том числе с использованием трансгенных линий мышей и мышей с генетическим нокаутом;

- изложены экспериментальные доказательства необходимости продуцируемых В-клетками факторов для своевременной активации специфических Т-лимфоцитов и сдерживания инфекционного процесса;

- раскрыты существенные проявления патогенетического действия нейтрофилов в иммунном ответе на ТБ-инфекцию, в том числе влияние на способность Т-клеток продуцировать один из основных защитных при ТБ цитокинов IFN- γ ; способность массово продуцировать свободный тимидин и усугублять течение инфекции;

- изучена связь между присутствием В-лимфоцитов и скоростью формирования нейтрофильного воспаления в ответ на введение микобактерий;

- проведена модернизация подхода к оценке эффективности вовлечения В-лимфоцитов в обеспечение защитного иммунного ответа в зависимости от генетической основы хозяина и вирулентности патогена.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- разработаны и внедрены технологии оценки уровня легочного воспаления, в том числе для постановки экспериментов по поиску и идентификации маркеров реактивации микобактерий в моделях заражения дормантными формами микобактерий, имитирующих латентную инфекцию у людей;

- определены перспективы практического использования полученных данных для выявления возможных механизмов прогрессирующего течения инфекции у генетически чувствительных пациентов и определения параметров для иммунодиагностики и оценки эффективности лечения;

- создана модель применения знаний о характере нейтрофильного и В-клеточного воспаления в легких для оценки эффективности формирования и поддержания иммунного ответа против микобактерий;

- представлены рекомендации по дальнейшему совершенствованию анализа воспаления, возникающего в ответ на микобактерии, с учетом различий характера течения заболеваний у животных с различной генетически обусловленной восприимчивостью к инфекции.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- результаты получены на сертифицированном оборудовании, эксперименты проведены по стандартизованным методикам, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;

- теория построена на доказанных проверяемых фактах, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации и по смежным отраслям;

- идея базируется на обобщении передового опыта исследователей по рассматриваемой тематике, в том числе на знаниях о моделировании инфекций и иммунопатогенезе ТБ и микобактериозов;

- использовано сравнение полученных автором данных и полученных ранее данных отечественных и зарубежных исследователей по рассматриваемой тематике;

- установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

- использованы современные методики сбора и обработки экспериментальных данных; объем проведенных исследований достаточен для выработки обоснованных заключений.

Личный вклад соискателя состоит в его непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования, а именно разработке идеи и концепции исследования, непосредственном участии в подготовке и проведении экспериментов, получении исходных данных, обработке, анализе и интерпретации полученных результатов, апробации результатов исследования, подготовке публикаций по теме выполненных работ.

В ходе защиты диссертации были заданы вопросы, на которые соискатель Линге И.А. ответила и привела собственную аргументацию.

Вопрос: Скажите, пожалуйста, с чем Вы можете связать, что введение клеток эмбриональной печени приводит к восстановлению ответа. Это роль V1-популяции?

Ответ: Да, у мышей CBA/N-xid мутация в гене *Btk* в первую очередь приводит к нарушению функций В-лимфоцитов. Когда мы проводили эти эксперименты, мы думали, что это именно они влияют. Но я думаю, что и V1-, и V2-лимфоциты тормозят миграцию нейтрофилов, после чего восстанавливается нормальное соотношение фагоцитов – профессиональных антиген-презентирующих клеток, и начинается активация Т-клеточного ответа. Мы здесь это не продемонстрировали, но проверяли ответ Т-клеток – он тоже восстанавливается.

Вопрос. Скажите, пожалуйста, Вы когда оценивали клональность по В-клеточным рецепторам, Вы смотрели только тяжелые цепи? CDR3 полноразмерный? Была цель определить клональность, специфичность?

Ответ. Здесь соматические гипермутации тоже учтены. Цель была определить клональность и подстройку под антигены. Строго говоря, здесь специфичность определить нельзя только по тому, какого размера кластеры с

клонами с единичными нуклеотидными заменами, мы можем оценить подстройку под антигены.

Вопрос. У меня такой короткий вопрос, вот Вы когда говорили про ген *Slc11a1*, который определяет чувствительность к туберкулезу, что это вообще за ген?

Ответ. Это ген, кодирующий помпу двухвалентных катионов в фагосомах макрофагов. В данном случае у мышей он как раз на чувствительность к туберкулезу у мышей не влияет, он определяет чувствительность к микобактериям *M. avium*. Это связано с тем, что *M. avium*, в отличие от *M. tuberculosis*, не могут выходить в цитозоль, где могут получать питание, поэтому экспрессия аллеля s или r четко определяет чувствительность к этой инфекции. Для туберкулеза на мышах это не работает, потому что микобактерии могут выходить в цитозоль и получать доступ к питанию, но в целом у людей найдены ассоциации некоторых полиморфизмов в этом гене, которые ассоциируются с чувствительностью к инфекции.

Вопрос. Косвенно можно понять, что препаратами, которые влияют на нейтрофилы для вспомогательной терапии туберкулеза, мы можем повлиять на В-звено, и это с вашей точки зрения, может это не лобовой вопрос по теме, но тем не менее. С вашей точки зрения, может ли это быть полезным для терапии множественного лекарственного устойчивого туберкулеза, как думаете?

Ответ. Тут ответ, наверное, нужно разделить на несколько частей. С одной стороны, как мы видим, нейтрофилы в легких точно являются патогенным фактором, это многократно показано, они способствуют образованию некрозов и разрушению ткани легкого. При этом нейтрофилы для других инфекций вообще-то являются защитой. Поэтому сразу в лоб удалять нейтрофилы, наверное, будет опасно и чревато тем, что могут присоединиться другие инфекции. Поэтому здесь должна быть более тонкая регуляция, локальная, непосредственно в легких. Кроме того, можно влиять по-другому, не непосредственно удалять нейтрофилы, а можно влиять на их функции, потому что, например, в зависимости от того, как погибают нейтрофилы, апоптозом или некрозом, это будет влиять на последующие события. Апоптоз – это более

благоприятный путь смерти клеток, потому что последующий фагоцитоз макрофагами приведет к тому, что они будут справляться с микобактериями. Поэтому ответ такой, что влиять нужно локально, но не просто удалять, а менять их функции.

Вопрос. На микрофотографиях на ряде рисунков (например, на рис. 2, 14, 15, 21, 28, 42) не указан масштаб.

Ответ: Да, действительно, я тоже иногда обнаруживаю с удивлением, что этого не сделано. Иногда это связано с тем, что фото было сделано давно, и это сразу не поставлено, и при переносе фото на другие компьютеры, где нет специальных программ, масштаб выставить уже невозможно. В таком случае в сноске в рисунке мы пишем, при каком увеличении были сделаны эти микрофотографии.

Вопрос. Данные на рис. 3 по количеству $\text{IFN-}\gamma^+$ -клеток было бы интересно сравнить с аналогичными результатами на мышах C57BL/6.

Ответ: Идет речь об эксперименте, где удалялись нейтрофилы. Поскольку мы не получили фенотип на мышах B6, то в данном случае такой эксперимент, к сожалению, не был поставлен. Но в целом, сопоставление Т-клеток, продуцирующих $\text{IFN-}\gamma$ у мышей B6 и I/St много раз было сделано. И в целом I/St делают его меньше.

Вопрос. На рис. 6Б наблюдается довольно удивительная картина пролиферации клеток, окрашенных CFSE. Пики не «двоятся», как это обычно бывает, а лишь сдвигаются влево, и создается впечатление, что клетки идеально синхронизированы по клеточному циклу. Как можно прокомментировать это наблюдение?

Ответ: Я сначала не очень поняла вопрос и даже залезла в исходники и проверила, как там это выглядит, и с одной стороны эти пики выглядят немного гладкими – это исключительно влияние программы. Я открыла их в более новой версии, и там выглядит это немного иначе. Но Ваш вопрос он немного про другое. Вы имеете ввиду, что не остается популяции, которая ярко светит по CFSE, я думаю, что это связано с тем что это опухолевые клетки, а не, например, Т-лимфоциты, которые, если активировать и пометить CFSE, то там

четко видно распределение пиков. А вот опухолевые клетки, я посмотрела и для других клеток, не только для миеломы, и они все синхронизированно делятся. Я думаю, что это связано с этим.

Вопрос. Был ли в эксперименте, результат которого показан на рис. 9, контроль с CFSE, чтобы убедиться, что в присутствии супернатанта нейтрофилов Т-клетки действительно пролиферировали?

Ответ: Вопрос о том, было ли в эксперименте, где мы оценивали влияние супернатанта нейтрофилов на Т-лимфоциты, смотрели ли мы там CFSE? Нет, конкретно в тех экспериментах мы этого не делали, это появилось позже, когда мы ушли в другие типы клеток. Но, когда мы ставим пролиферативные тесты, мы всегда смотрим в микроскоп. И собственно глазом всегда видно, клетки пролиферируют или нет, потому что они собираются в кучки, в кластеры, они образуют бласты, поэтому клетки пролиферирующие, отличить от лунок, где нет антигена или другого стимула, и они не делятся, очень четко отличаются. Это-то нас и наводило на вопрос, собственно, мы видим, что они должны пролиферировать, но тимидин не включают. Поэтому это всегда визуально контролировалось.

Вопрос. Как в эксперименте, результаты которого показаны на рис. 38, можно убедиться, что антиген-презентирующие клетки мышей СВА/Н не производят тимидина, который блокирует включение [^3H]-тимидина в соответствующих образцах?

Ответ: Мы как раз видели, что у СВА/Н нет никакой пролиферации. Я думаю, что здесь это двойное влияние. Во-первых, это собственно отсутствие пролиферации, потому что там в основном нейтрофилы, а не макрофаги, но полный ноль включения тимидина в том числе потому, что нейтрофилы его секретируют. Поэтому здесь двойной эффект.

Вопрос. Что можно сказать о значимости наблюдений на рис. 40? На данном рисунке показаны результаты одного эксперимента, статистика не приведена.

Ответ: К сожалению, не указана достоверность. Но она, конечно, была посчитана. Здесь нейтрофилы были пулированы от трех мышей, были

поставлены в триплетах, $p < 0,01$. Представлен один из трех репрезентативных экспериментов.

Вопрос. Эксперименты с «фактором нейтрофилов» ставились какое-то время назад. Какова современная точка зрения на происхождение тимидина в этой системе, подтверждается ли гипотеза о том, что тимидин является продуктом деградации внеклеточных нейтрофильных ловушек?

Ответ: Мы предполагали, что тимидин может быть следствием деградации NETs, нейтрофильных ловушек, но к сожалению в современной литературе большинство исследователей интересуются их производством, но не деградацией. Количество исследований, как они деградируют, на порядки меньше. Тем не менее, кое-что известно. Считается, что в этом в основном принимают участие ДНКазы I и II, и это обязательно должно происходить, чтобы не вызывать излишний иммунный ответ, но к сожалению, нет данных, что единичные основания могут при этом отделяться. Мы эту тему тоже больше не раскручивали, поэтому природа этого явления до конца не известна.

Вопрос. Когда говорят о нейтрофилах в контексте ТБ, в первую очередь упоминают нейтропению как нежелательное побочное явление при лечении ТБ. Можно ли предположить, что нейтропения при ТБ играет определенную позитивную роль за счет снижения поражения легочной ткани? Или же этим снижением можно пренебречь в сравнении с повышенной опасностью других бактериальных инфекций?

Ответ: Я тут немного отвечу по поводу нейтропении, которая наблюдается, действительно, например, в ответ на линезолид, но клиницисты считают, что это плохо, потому что могут присоединяться другие инфекции. Тут еще нужно сказать, что состояние крови и ситуация в легком не обязательно друг друга отражают. Поэтому, в крови это плохо, и в этом случае отменяют препараты и назначают другое лечение.

Вопрос. В работе детально рассмотрена роль нейтрофилов и В-лимфоцитов в патогенезе микобактериальной инфекции. Однако неоднократное упоминание этих клеток как «неканонических» участников иммунного ответа вызывает вопрос: насколько наблюдаемые эффекты можно считать значимыми

в масштабе всей иммунной реакции? Не укладываются ли описанные феномены в условные 5% от общих изменений, связанных с основными участниками иммунного ответа, такими как макрофаги и Т-лимфоциты CD4+?

Ответ: Почему я и мы называем нейтрофилы и В-лимфоциты неканоническими участниками ответа на микобактерии. Традиционно в иммунологии считается, что микобактерии являются внутриклеточной инфекцией, и основные клетки, это макрофаги, которые поглощают и презентруют микобактериальные антигены Т-клеткам, Т-клетки активируются и отвечают. Это признанные каноны, которые сложно сдвигать. При этом В-лимфоциты активные участники ответа. Но когда говорят о внутриклеточных инфекциях, то о В-клетках говорят не в первую очередь. Более того, нейтрофилы, считаются все-таки защитными клетками врожденного иммунитета, поэтому, когда мы говорим об их неоднозначной роли при туберкулезе, в этом случае это тоже сдвиг канонов. Поэтому я, мы, их так называем. Что касается того, насколько они вовлечены. Судя потому, что мы видим, они очень вовлечены. Оценить процентное вовлечение сложно, по реакциям, 5% или больше, поэтому по тому, какие функции они выполняют, это сложно, но даже если посмотреть количественно, например, В-клетки у некоторых мышей в легких могут занимать до 30% от лимфоцитов, наравне с Т-клетками CD4+. Поэтому это точно не какая-то минорная популяция. Да, они могут не так активно проявлять свои защитные функции, но то, что они мигрируют в легкое, которое вообще-то предназначено для дыхания, а не для того, чтобы там копились иммунные клетки, которые забивают дышащую ткань, а нейтрофилы наравне с ними и даже может больше на определенных стадиях развития болезни, то здесь о «5%» точно говорить не приходится и они активно вовлечены в ответ на микобактериальные инфекции.

Вопрос. Следующий вопрос еще более дискуссионный и касается понятия вирулентности бактерий, а именно её меры. В работе используются выражения: «высоковирулентными микобактериями *M. tuberculosis*», «менее вирулентными микобактериями *M. avium*», «вирулентными лабораторными штаммами *M. tuberculosis* H37Rv и Erdman», «более вирулентный для мышей штамм

микобактерий *M. tuberculosis* Erdman или клинический гипервирулентный изолят HN878», «инфекция высоковирулентными микобактериями *M. tuberculosis* H37Rv» (отмечу, штаммы H37Rv и Erdman переходят между условными группами вирулентности по ходу текста). Однако критерии, по которым оценивается вирулентность, не всегда очевидны. Это доза заражения, степень патологических изменений, выживаемость животных или способность бактерий избегать иммунного ответа? Тут же возникает дополнительный вопрос: можно ли однозначно утверждать, что любой представитель *M. avium* будет менее вирулентным, чем *M. tuberculosis* H37Rv, и наоборот?

Ответ: Описываемые и используемые в работе различные штаммы микобактерий, например H37Rv, Erdman и клинический изолят, что это вообще такое. Они изначально все являются клиническими изолятами. H37Rv был выделен от пациента в 1905 году, Erdman – в 1945 году. Поскольку они уже много десятилетий культивируются в лабораториях, их уже называют лабораторными штаммами, хотя изначально это были клинические изоляты. Изолят HN78 – это тоже изолят, просто он выделен в 1965 году. Он считается более вирулентным, поскольку еще не так долго поддерживается в лабораториях. И еще не потерял ту вирулентность, которая была изначально при выделении от пациента. Как определяют вирулентность. Есть, например, статьи, где берут несколько штаммов, заражают ими мышей и дальше смотрят бактериальную нагрузку в органах, сроки жизни и патологию. Исходя из этого, делают выводы, что тот или иной штамм более или менее вирулентный. В лабораториях при культивации и хранении штаммы теряют вирулентность, даже когда бактерии проводят через мышей, чтобы восстановить вирулентность. Все равно считается, что со временем в лабораториях бактерии теряют вирулентность. По поводу того, что в тексте иногда меняется употребление «вирулентный» и «высоковирулентный», возможно да, это не всегда правомерно. Но в целом они все вирулентные в том смысле, что они вызывают гибель животных при инфицировании.

Вопрос. В этом контексте также стоит обратиться к используемому штамму *M. avium* 724: проводилось ли исследование, к какому подвиду относится указанная культура?

Ответ: Этот штамм был также выделен от больного, относится к *M. avium*.

Вопрос. Для менее глубоко погружённого в тему специалиста может быть сложно ориентироваться в научном контексте, в котором работает автор. Так, в работе отсутствует общее описание иммунного ответа на микобактериальные инфекции, а также базовая информация о самих микобактериях. Например, не упоминается, что туберкулез вызывается не только *M. tuberculosis*, но и другими представителями микобактерий туберкулезного комплекса. Кроме того, выбор *M. avium* как объекта исследования не объясняется, хотя микобактериозы могут вызываться множеством других видов бактерий.

Ответ. По поводу отсутствия описания иммунного ответа, мне кажется, что большая часть посвящена именно иммунному ответу. Может быть в меньшей степени уделено ответу Т-клеток и макрофагов. По поводу описания микобактерий – да, почему-то я этого не сделала, наверное, подразумевая, что я пишу работу по иммунологии, и описание микобактерий я не затронула. Да, действительно, туберкулез вызывается микобактериями комплекса *M. tuberculosis*, также как и микобактериозы вызываются *M. avium* и другими нетуберкулезными микобактериями, но преимущественно туберкулез вызывается микобактериями туберкулеза, а микобактериозы в Европе и в России – преимущественно микобактериями комплекса *M. avium*, в связи с этим эти бактерии и были выбраны для исследования.

Вопрос. Дополнительную сложность восприятия вызывает отсутствие иллюстраций в разделе обзора литературы. Первый рисунок появляется только на 78 странице в разделе результатов, что снижает наглядность и доступность представленного материала.

Ответ: По поводу рисунков – это выработанный с годами стиль, при котором я не использую рисунки в литобзорах, хотя сама люблю, когда в статьях и обзорах изображают схемы и рисунки. Это я учту на будущее.

Вопрос. Также в тексте встречаются небольшие редакторские недочёты. Например, в разделе «Материалы и методы» не приведены праймеры для ПЦР в реальном времени, а некоторые ссылки, упомянутые в тексте, не включены в список литературы.

Ответ: Да, к сожалению, я это пропустила. По поводу ссылок, это тоже удивительно, ведь я столько раз все это проверяла, но теперь это уже останется навсегда.

Диссертация Линге И.А. «Роль нейтрофилов и В-лимфоцитов в иммунном ответе на микобактерии у мышей с различной генетически обусловленной чувствительностью к инфекции» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности «3.2.7 Иммунология» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как крупное научное достижение в области иммунологии: установлено, что нейтрофилы являются патогенетическим фактором при ТБ, а также снижают эффективность вакцинации BCG против ТБ; выявлено, что В-лимфоциты тормозят миграцию нейтрофилов; доказано, что входящие в состав В-фолликулов В-клетки в легких при микобактериальных инфекциях выполняют все свойственные им функции; продемонстрировано, что сохранение структур В-фолликулов в легких при ТБ ассоциировано с устойчивым фенотипом; установлено, что функции легочных В-клеток в отношении продукции специфических антител зависят от генетически-ассоциированной чувствительности хозяина к инфекции; установлены продуцируемые В-клетками факторы, необходимые для своевременной активации специфических Т-лимфоцитов и обеспечения устойчивого фенотипа животных.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакции постановления Правительства РФ от 30.07.2014 г. № 723, от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. № 1024, от

01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. №426, от 11.09.2021 г. №1539, от 26.09.2022 г. №1690, 26.01.2023 г. №101, 18.03.2023 г. №415, 26.10.2023 г. №1786, от 25.01.2024 № 62, от 16.10.2024 №1382), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор достоин присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности «3.2.7. Иммунология».

На заседании 04.06.2025 г. диссертационный совет принял решение за разработку теоретических положений, совокупность которых можно квалифицировать как крупное научное достижение в области иммунологии, присудить Линге И.А. ученую степень доктора биологических наук по специальности «3.2.7 Иммунология».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 20 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовал: за – 20, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета
академик РАН, доктор медицинских наук,
профессор



Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук

М.Р. Хаитов

Г.О. Гудима

05.06.2025 г.