

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Ключерева Тимофея Олеговича на тему: «Регуляция экспрессии белков и генов, связанных с провоспалительной поляризацией макрофагов, под действием внеклеточных везикул мезенхимных стромальных клеток», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.3. Молекулярная биология, 1.5.22. Клеточная биология.

Макрофаги являются одним из ключевых клеточных компонентов врожденного иммунитета, обладающих выраженной фенотипической пластичностью и способностью адаптироваться к изменениям микроокружения. Помимо выполнения защитных функций, данные клетки играют важную роль в регуляции тканевого гомеостаза, процессах регенерации и ремоделирования тканей. Нарушение баланса между провоспалительными и противовоспалительными фенотипами макрофагов рассматривается как один из факторов развития хронических воспалительных и дегенеративных заболеваний. В этой связи актуальной является разработка терапевтических подходов, направленных на модуляцию активации иммунных клеток при минимальном риске системных побочных эффектов, характерных для традиционных противовоспалительных и иммуносупрессивных лекарственных препаратов. В рамках данного исследования был проведен комплексный анализ иммунорегуляторных свойств матрикс-связанных везикул (МСВ), ассоциированных с компонентами внеклеточного матрикса, и внеклеточных везикул из кондиционированной среды (ВВ/КС) мезенхимных стромальных клеток основного вещества пуповины человека (МСК-ПК) в отношении регуляции провоспалительной активации макрофагов человека, а также была проведена оценка противовоспалительного терапевтического потенциала изучаемых в исследовании внеклеточных везикул на примере животной модели остеоартрита.

Автореферат Ключерева Т.О. отличается логически выверенной структурой. Примененные в рамках данного исследования соответствуют целям и задачи работы. Следует отметить, что работа обладает научной новизной, поскольку сравнительные исследования иммунорегуляторных и терапевтических эффектов МСВ и свободно секретируемых везикул до настоящего времени были представлены ограниченно. Для осуществления задачи по характеристике двух популяций внеклеточных везикул: МСВ и ВВ/КС были выполнены вестерн-блоттинг, анализ динамического светорассеяния наночастиц, электронная и конфокальная микроскопия, также в ходе исследования был проведен протеомный анализ внеклеточных везикул обоих типов. Для оценки влияния внеклеточных везикул на поляризацию и функциональную активность макрофагов человека использованы иммуноферментный анализ, проточная цитометрия, вестерн-блоттинг, люминол-зависимая хемилюминесценция и

полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией. Противовоспалительные эффекты внеклеточных везикул дополнительно подтверждены результатами иммуногистохимического анализа тканей коленного сустава у животных с хирургически индуцированным остеоартритом. Полученные результаты продемонстрировали различия в свойствах между исследуемыми популяциями везикул, а также показали ряд иммунорегуляторных свойств на примере макрофагов человека *in vitro* условиях, ослабляя M1 поляризацию макрофагов и подтвердив терапевтический и противовоспалительный эффект МСВ и ВВ/КС на примере животной модели остеоартрита.

Полученные результаты обладают как теоретической, так и практической значимостью. В *in vitro* экспериментах впервые продемонстрированы противовоспалительные эффекты МСВ мезенхимных стромальных клеток человека в отношении макрофагов, дифференцированных из моноцитов периферической крови. Использование первичных макрофагов человека повышает биологическую релевантность полученных данных. Практическая значимость работы подтверждается результатами *in vivo* исследования, показавшими противовоспалительное действие обеих популяций внеклеточных везикул в тканях коленного сустава при остеоартрите, что позволяет рассматривать данные везикулы как перспективную основу для разработки новых терапевтических подходов при воспалительно-дегенеративных заболеваниях.

Вместе с тем при анализе автореферата возникли отдельные вопросы дискуссионного характера:

1. Рассматривалась ли возможность влияния внеклеточных везикул на функциональное состояние макрофагов через изменения их метаболического профиля, помимо анализа продукции активных форм кислорода?

2. Насколько воспроизводимы были эффекты МСВ и ВВ/КС между различными донорами макрофагов? Учитывалась ли возможная донор-специфическая изменчивость?

Данные замечания не снижают общей высокой оценки научной значимости диссертационной работы и подчеркивают её потенциал для дальнейшего развития исследовательского направления.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, по данным автореферата, диссертационная работа Ключерева Т.О. «Регуляция экспрессии белков и генов, связанных с провоспалительной поляризацией макрофагов, под действием внеклеточных везикул мезенхимных стромальных клеток» на соискание ученой степени кандидата биологических наук полностью соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном

образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023г., приказом №0787/Р от 24.05.2024г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Ключерев Тимофей Олегович заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям 1.5.3. Молекулярная биология, 1.5.22. Клеточная биология.

Декан факультета биомедицины,  
директор Департамента медицинской биологии и биотехнологии  
Института мирового океана (Школы) Дальневосточного федерального университета,  
кандидат биологических наук, доцент

Кумейко Вадим Владимирович

+7-902-555-18-21

kumeyko.vv@dvmfu.ru

vkumeiko@yandex.ru

