

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

диссертационного совета ДСУ 208.003.03, созданного при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

аттестационное дело № 74.01-07/072-2025

решение диссертационного совета от 27 февраля 2026 года, протокол № 3

О присуждении Ключереву Тимофею Олеговичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация на тему «Регуляция экспрессии белков и генов, связанных с провоспалительной поляризацией макрофагов, под действием внеклеточных везикул мезенхимных стромальных клеток» в виде рукописи по специальностям 1.5.3. Молекулярная биология и 1.5.22. Клеточная биология принята к защите 14 января 2026 г. (протокол заседания №2) диссертационным советом ДСУ 208.003.03, созданным при ФГАОУ ВО Первом Московском государственном медицинском университете имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8, строение 2 (приказ ректора от 19.09.2024 г. № 1493/Р).

Соискатель Ключерев Тимофей Олегович, 1998 года рождения, гражданство Российской Федерации, окончил федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации

(Сеченовский Университет) в 2021 году по направлению 33.05.01 «Фармация». В 2021 году зачислен в число аспирантов 1-ого курса на очную форму обучения по основной профессиональной образовательной программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению 06.06.01 Биологические науки. Отчислен из аспирантуры в 2025 году в связи с окончанием обучения.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов №2156/Ао выдана в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

С 2023 года работает в должности младшего научного сотрудника Лаборатории клинических смарт-нанотехнологий Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по настоящее время.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук выполнена в Институте регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Научные руководители:

доктор химических наук, профессор ТИМАШЕВ ПЕТР СЕРГЕЕВИЧ, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Институт регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины, и.о. директора;

кандидат физико-математических наук ВЛАСОВА ИРИНА ИВАНОВНА, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России

(Сеченовский Университет), Отдел современных биоматериалов, Институт регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

ШЕВАЛЬ ЕВГЕНИЙ ВАЛЕРЬЕВИЧ – гражданин Российской Федерации, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, лаборатория ультраструктуры клеточного ядра, заведующий лабораторией;

ЧЕВКИНА ЕЛЕНА МАКСИМОВНА – гражданка Российской Федерации, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России, Научно-исследовательский институт экспериментальной онкологии и канцерогенеза, лаборатория внутриклеточной и межклеточной сигнализации, заведующий лабораторией (прежнее: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России, Научно-исследовательский институт канцерогенеза, лаборатория регуляции клеточных и вирусных онкогенов)

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» в своем положительном отзыве, составленный членом-корреспондентом Российской академии наук, доктором

медицинских наук, профессором ЧЕРНЫХ ЕЛЕНОЙ РЭМОВНОЙ, заведующим лабораторией клеточной иммунотерапии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», и утвержденный доктором биологических наук СИЛКОВЫМ АЛЕКСАНДРОМ НИКОЛАЕВИЧЕМ, директором Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», указали, что диссертационная работа Ключерева Тимофея Олегович на тему «Регуляция экспрессии белков и генов, связанных с провоспалительной поляризацией макрофагов, под действием внеклеточных везикул мезенхимных стромальных клеток» представляет собой завершенное самостоятельное научно-квалификационное исследование, в рамках которого решена значимая научно-практическая проблема, связанная с установлением механизмов иммуномодулирующего воздействия различных субпопуляций внеклеточных везикул мезенхимных стромальных клеток на функциональную активность макрофагов человека, а также с оценкой их роли в регуляции воспалительного процесса на модели остеоартрита *in vivo*. Полученные данные расширяют современные представления о молекулярных механизмах межклеточной коммуникации и формируют основу для разработки новых клеточно-опосредованных противовоспалительных стратегий, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 г. (с изменениями, утвержденными приказом ректора №1179 от 29.08.2023 г., приказом Сеченовского Университета № 0787/Р от 24 мая 2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Ключерев Тимофей Олегович заслуживает присуждения искомой ученой степени по

специальностям 1.5.3. Молекулярная биология и 1.5.22. Клеточная биология.

Соискатель имеет 12 опубликованных работ, в том числе 3 научные статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Scopus, PubMed, 2 иные публикации по результатам исследования, 7 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежная конференция). Авторский вклад – 80%.

Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. **Klyucherev T.**, Peshkova M., Revokatova D. et al. Therapeutic potential of exosomes vs. matrix-bound nanovesicles from human umbilical cord mesenchymal stromal cells in osteoarthritis treatment Int J Mol Sci. – 2024. – V. 25, №21. – P. 11564. [Scopus]

2. Suleimanov S., Efremov Yu., **Klyucherev T.** et al. Radical-generating activity, phagocytosis, and mechanical properties of four phenotypes of human macrophages // Int J Mol Sci. – 2024. – V. 25, №3. – P. 1860. [Scopus]

3. **Klyucherev T.**, Peshkova M., Yurkanova M. et al. Advances in regenerative therapies for inflammatory arthritis: exploring the potential of mesenchymal stem cells and extracellular vesicles // Int J Mol Sci. – 2025. – V. 26. – 5766.

На автореферат диссертации поступили отзывы от: доктора медицинских наук, ведущего научного сотрудника лаборатории нейробиологии и тканевой инженерии Института мозга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский центр неврологии и нейронаук» – КОМЛЕВОЙ ЮЛИИ КОНСТАНТИНОВНЫ; кандидата биологических наук, доцента кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» –

ЛИПИНОЙ ТАТЬЯНЫ ВЛАДИМИРОВНЫ; доктора биологических наук, профессора, член-корреспондента РАН, заведующего отделом биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина» Федерального медико-биологического агентства – ПАНАСЕНКО ОЛЕГА МИХАЙЛОВИЧА; доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии института хирургии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации – ЛАЗИШВИЛИ ГУРАМА ДАВИДОВИЧА; кандидата биологических наук, заведующего лабораторией регенеративной медицины Научно-исследовательского института экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Приволжский исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации – КАШИНОЙ АЛЕКСАНДРЫ ВИКТОРОВНЫ; доктора медицинских наук, заведующего кафедрой травматологии, ортопедии, военно-полевой хирургии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации – МАЛАНИНА ДМИТРИЯ АЛЕКСАНДРОВИЧА; кандидата биологических наук, доцента, декана факультета биомедицины, директора Департамента медицинской биологии и биотехнологии Института мирового океана (Школы) Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет» – КУМЕЙКО ВАДИМА ВЛАДИМИРОВИЧА.

Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обоснован тем, что они являются известными специалистами в данной области и имеют публикации по теме диссертации в рецензируемых научных журналах.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» выбрано в качестве ведущей организации в связи с тем, что научные направления, разрабатываемые данным учреждением, соответствуют профилю и специальностям представленной диссертации, сотрудники имеют публикации в рецензируемых научных журналах.

В связи с тем, что диссертация выполнена по двум специальностям 1.5.3. Молекулярная биология и 1.5.22. Клеточная биология в состав диссертационного совета с правом решающего голоса на разовую защиту введены 3 доктора наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология (Блинова Екатерина Валериевна, доктор медицинских наук, профессор ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Раденска-Лоповок Стефка Господинова, доктор медицинских наук, профессор ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) – членов диссертационного совета ДСУ 208.001.31 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (приказ 0864/Р от 18.07.2022 г.); Бураков Антон Владимирович, доктор биологических наук, ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

установлено, что макрофаги, дифференцированные из моноцитов человека, являются более оптимальной клеточной моделью для исследования внеклеточных везикул по сравнению с макрофагами линии ТНР-1 по

профилю экспрессируемых и секретируемых маркеров поляризации в состоянии M1 и M2;

доказано, что матрикс-связанные везикулы и внеклеточные везикулы из кондиционированной среды мезенхимных стромальных клеток пупочного канатика человека характеризуются выраженными различиями в протеомном составе между двумя популяциями везикул при высокой скоррелированности образцов внутри каждой субпопуляции;

установлены рабочие концентрации исследуемых внеклеточных везикул в отношении макрофагов человека, дифференцированных из моноцитов, составляющие не менее 100 мкг/мл в пересчете на белок;

выявлено, что оба типа внеклеточных везикул обладают противовоспалительной активностью в отношении M1 макрофагов человека спустя 48 часов инкубации;

установлены различия в биологической активности исследуемых субпопуляций внеклеточных везикул в отношении различных аспектов функциональной активности макрофагов человек, при которых матрикс-связанные везикулы оказывают более выраженное влияние на фагоцитарную активность макрофагов при одновременном снижении секреции цитокинов и экспрессии маркеров M1 поляризации, тогда как внеклеточные везикулы из кондиционированной среды демонстрируют более выраженный ингибирующий эффект в отношении прооксидантной активности M1 макрофагов;

доказано, что внеклеточные везикулы исследуемых субпопуляций оказывают различное влияние на экспрессию мРНК и белков НАДФН-оксидазы 2, а также компонентов сигнального пути JAK/STAT1, что коррелирует с выявленными различиями в их иммуномодулирующих свойствах;

установлен противовоспалительный эффект изучаемых внеклеточных везикул в отношении локального воспалительного процесса в коленном суставе животных с остеоартритом, что продемонстрировано методом

иммуногистохимического анализа экспрессии про- и противовоспалительных белков.

Теоретическая значимость проведенного исследования обоснована тем, что:

установлено, что матрикс-связанные везикулы и внеклеточные везикулы, выделенные из кондиционированной среды, различаются по размерным характеристикам, уровню экспрессии экзосомальных маркеров и протеомному составу;

доказано, что внеклеточные везикулы из кондиционированной среды обогащены белками, участвующими в положительной регуляции биосинтеза, организации и ремоделирования внеклеточного матрикса, тогда как протеом матрикс-связанных везикул характеризуется наличием белков с иммуномодулирующими свойствами, ассоциированных со стимуляцией процессов регенерации тканей, фагоцитоза и эндоцитоза;

установлено, что исследуемые субпопуляции внеклеточных везикул мезенхимных стромальных клеток обладают выраженной противовоспалительной активностью в отношении M1-макрофагов человека при концентрации белка 100 мкг/мл и не проявляют цитотоксического действия на макрофаги в условиях *in vitro*;

выявлены различия в иммуномодулирующих эффектах матрикс-связанных везикул и внеклеточных везикул из кондиционированной среды в отношении макрофагов человека: матрикс-связанные везикулы оказывают более выраженное ингибирующее влияние на экспрессию цитокинов и поверхностных маркеров, ассоциированных с M1-поляризацией, тогда как внеклеточные везикулы из кондиционированной среды характеризуются более значимым снижением продукции активных форм кислорода M1-макрофагами;

установлено, что матрикс-связанные везикулы реализуют противовоспалительный эффект в отношении M1-макрофагов человека

посредством ингибирования экспрессии ключевых компонентов сигнального пути JAK/STAT1, включая STAT1, STAT2 и IRF9;

продемонстрировано, что применение внеклеточных везикул мезенхимных стромальных клеток пупочного канатика человека приводит к снижению экспрессии провоспалительных белков в тканях коленного сустава на животной модели остеоартрита у крыс, индуцированного менискэктомией, через 21 сутки терапии.

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

разработаны и внедрены основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации в учебный процесс Института регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет) в дисциплины «Введение в регенеративную медицину», «Молекулярно-биологические основы регенеративной медицины», читаемых для студентов по направлениям подготовки 06.04.01 «Биология», 28.04.03 «Наноматериалы», 22.04.01 «Материаловедение и технологии материалов», (акт № 712 от 10.07.2025 г.);

выявлены различия в иммуномодулирующих свойствах исследуемых субпопуляций внеклеточных везикул в отношении регуляции функциональной активности макрофагов, продукции активных форм кислорода, фагоцитоза, а также модификации экспрессии мРНК и белков, ассоциированных с ферментом НАДФН-оксидазой 2 и компонентами сигнального пути JAK/STAT1. Полученные результаты позволяют рассматривать данные наночастицы как перспективную платформу для направленной модуляции воспалительного ответа;

доказано, что внеклеточные везикулы, выделенные из кондиционированной среды, и матрикс-связанные везикулы мезенхимных стромальных клеток пупочного канатика человека, оказывают выраженный

противовоспалительный эффект в отношении развития воспалительного процесса в тканях коленного сустава на животной модели остеоартрита, тем самым подтверждая возможность их дальнейшего использования при разработке новых терапевтических подходов к лечению воспалительно-дегенеративных заболеваний суставов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

результаты получены на сертифицированном оборудовании с использованием современных клеточных, молекулярно-биологических, протеомных и иммуногистохимических методов анализа. В работе применялись стандартизированные протоколы выделения и характеристики внеклеточных везикул, методы анализа экспрессии генов и белков, а также методы иммуногистохимического анализа тканей суставов, эксперименты проводились в достаточном числе биологических и технических повторов.

теория построена на результатах анализа зарубежной литературы, представленной по тематике диссертационного исследования;

идея базируется на анализе и обобщении теоретических и практических сведений из существующих научных исследований, касающихся изучения свойств внеклеточных везикул мезенхимных стромальных клеток, а также применения внеклеточных везикул с целью оценки изменений функциональной активности макрофагов, перепрограммирования профиля экспрессии сигнальных путей и фенотипических маркеров макрофагов, а также модификации воспалительных и дегенеративных процессов в развитии остеоартрита.

использованы клеточные, гистологические, физико-химические и молекулярно-биологические методы для анализа состава и свойств внеклеточных везикул, а также иммуномодулирующих свойств в отношении макрофагов человека и развития воспалительного процесса при остеоартрите;

использована статистическая обработка результатов, основанная либо на расчете непараметрического критерия Краскела–Уоллиса или однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) для сравнения переменных и расчета р-значений для определения статистически значимых различий в средних значениях.

Выводы основаны на результатах исследования, соответствуют поставленным задачам, хорошо аргументированы. Практические рекомендации обоснованы результатами исследования и имеют высокую научно-практическую значимость.

Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Личный вклад автора носит комплексный характер и охватывает все этапы выполнения диссертационного исследования непосредственно от формулирования научной концепции до интерпретации и представления полученных результатов. Автором самостоятельно определены цель и задачи работы, проведён системный анализ отечественных и зарубежных источников литературы, что позволило обосновать актуальность и научную направленность исследования. Экспериментальная часть работы выполнена автором лично либо при его непосредственном и определяющем участии. Автору принадлежит ведущая роль в организации и проведении исследований, включающих получение и характеристику первичных культур макрофагов, дифференцированных из моноцитов периферической крови человека, мезенхимных стромальных клеток, а также выделение и анализ внеклеточных везикул. Им проведена оценка иммуномодулирующих свойств различных субпопуляций внеклеточных везикул в отношении регуляции функциональной активности макрофагов, включая анализ экспрессии генов и белков, ассоциированных с про- и противовоспалительными реакциями. Автор принимал непосредственное участие в разработке и воспроизведении экспериментальной модели остеоартрита у лабораторных животных посредством менискэктомии, проведении терапии внеклеточными

везикулами и последующем иммуногистохимическом анализе тканей коленного сустава. Обработка, статистический анализ и интерпретация полученных данных осуществлены при активном участии автора. Результаты исследования апробированы на российских и международных научных форумах; автор выступал с устными и стендовыми докладами и принимал участие в подготовке научных публикаций по теме диссертации.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и по своей актуальности, научной новизне, методическому уровню исполнения, объему проведенного исследования, теоретической и научно-практической значимости полученных результатов, обоснованности выводов соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. 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 диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор Ключерев Тимофей Олегович заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям 1.5.3. Молекулярная биология и 1.5.22. Клеточная биология.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. В процессе заседания были заданы уточняющие вопросы, на которые соискатель Ключерев Тимофей Олегович дал исчерпывающие ответы.

На заседании 27 февраля 2026 года диссертационный совет принял решение: за решение научно-практической задачи, заключающейся в установлении механизмов иммуномодулирующего действия различных субпопуляций внеклеточных везикул мезенхимных стромальных клеток на макрофаги человека и в анализе их роли в регуляции воспалительного процесса на модели остеоартрита, что имеет важное значение для

специальностей 1.5.3. Молекулярная биология и 1.5.22. Клеточная биология, присудить Ключереву Тимофею Олеговичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет, в количестве 12 человек, присутствовавших на заседании, из них 7 по специальностям, рассматриваемой диссертации (4 доктора наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки) и 3 доктора наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки), из 13 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за присуждение ученой степени - 12, против присуждения ученой степени - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Заместитель председателя диссертационного совета,
доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН

А.Н. Лукашев

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент

А.И. Шпичка



«27» февраля 2026 г.