

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.

Диссертационное исследование Ключерева Т.О. посвящено актуальной научной проблеме, связанной с регуляцией регенеративных и воспалительных процессов посредством иммуномодуляции макрофагов с использованием внеклеточных везикул (ВВ) мезенхимных стромальных клеток (МСК). В работе рассматриваются иммунорегуляторные свойства МСВ и жидкофазных ВВ мультипотентных МСК в контексте фенотипического перепрограммирования макрофагов и изменения их функциональной активности. Существенное внимание уделено оценке терапевтического потенциала исследуемых везикул в условиях воспалительного процесса на модели остеоартрита.

В рамках исследования впервые проведено сравнительное изучение иммуномодулирующих эффектов матрикс-связанных везикул (МСВ) и внеклеточных везикул, секретируемых в кондиционированную среду (ВВ/КС) мультипотентных мезенхимных стромальных клеток основного вещества пуповины (МСК-ПК) человека, в аспекте регуляции фенотипов макрофагов. Автором установлены различия в воздействии двух типов ВВ на фагоцитарную активность, продукцию активных форм кислорода, а также экспрессию маркеров M1/M2-поляризации у макрофагов человека. Важным результатом исследования является анализ модуляции экспрессии компонентов комплекса НАДФН-оксидазы 2 и сигнального пути JAK/STAT1 у провоспалительных макрофагов под действием указанных популяций внеклеточных везикул. Отдельного внимания заслуживает выполненный автором протеомный анализ МСВ и ВВ/КС, изолированных из МСК-ПК человека. Обе популяции везикул продемонстрировали выраженные различия в белковом составе. Для МСВ выявлено обогащение белками, ассоциированными с регуляцией иммунного ответа и фагоцитоза, что может служить молекулярным объяснением более выраженного противовоспалительного эффекта данной популяции в контексте фенотипического перепрограммирования M1-макрофагов.

Значимым практическим результатом диссертационного исследования является оценка терапевтического потенциала двух популяций внеклеточных везикул МСК-ПК человека в условиях воспалительного процесса в тканях коленного сустава у животных с экспериментально индуцированным остеоартритом. Анализ влияния внеклеточных везикул на развитие воспалительного процесса в коленных суставах был осуществлен с помощью иммуногистохимического окрашивания для оценки экспрессии провоспалительных белков, ассоциированных с M1 поляризацией макрофагов, таких как индуцируемая синтаза оксида азота, фактор некроза опухоли альфа, и противовоспалительного маркера, связанного с M2 поляризацией макрофагов – аргиназы 1. Оба типа внеклеточных везикул продемонстрировали терапевтическую эффективность, уменьшая экспрессию провоспалительных белков и усиливая экспрессию противовоспалительного маркера, при этом более выраженные эффекты были отмечены для везикул, выделенных из кондиционированной среды. Полученные данные формируют фундаментальную основу для разработки новых терапевтических подходов к лечению остеоартрита с использованием внеклеточных везикул, полученных из МСК.

Значимым практическим результатом диссертационного исследования является оценка терапевтического потенциала двух популяций внеклеточных везикул МСК-ПК человека в

условиях воспалительного процесса в тканях коленного сустава у животных с экспериментально индуцированным остеоартритом. Анализ влияния внеклеточных везикул на развитие воспалительного процесса в коленных суставах был осуществлён с помощью иммуногистохимического окрашивания для оценки экспрессии провоспалительных белков, ассоциированных с M1-поляризацией макрофагов, таких как индуцируемая синтаза оксида азота, фактор некроза опухоли α , а также противовоспалительного маркера, связанного с M2-поляризацией макрофагов, – аргиназы-1. Оба типа внеклеточных везикул продемонстрировали терапевтическую эффективность, уменьшая экспрессию провоспалительных белков и усиливая экспрессию противовоспалительного маркера. При этом более выраженные эффекты были отмечены для везикул, выделенных из кондиционированной среды. Полученные данные формируют фундаментальную основу для разработки новых терапевтических подходов к лечению остеоартрита с использованием внеклеточных везикул, полученных из MSC.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации, корректно структурирован и излагается в академически выдержанном, научно обоснованном стиле. Представлены ключевые методологические этапы и значимые результаты, снабжённые количественными и статистическими данными. Научные результаты диссертации Ключерева Т.О. опубликованы в 12 работах, среди которых 3 экспериментальные статьи опубликованы в базе данных Scopus. Положения, выносимые на защиту, соответствуют паспорту научной специальности 1.5.3 Молекулярная биология, 1.5.22 Клеточная биология.

Несмотря на ценность научных результатов иммуногистохимического анализа, полученные в ходе изучения внеклеточных везикул на развитие воспалительного процесса на модели остеоартрита *in vivo* возникает следующий вопрос дискуссионного характера.

Рассматривалась ли возможность дополнения иммуногистохимического анализа морфометрическими методами оценки состояния суставного хряща (например, окраска гематоксилин-эозином или Сафранин-О/Fast Green) для более комплексной характеристики структурных изменений при остеоартрите?

Планируется ли расширение иммуногистохимического анализа с привлечением маркеров дегенерации и ремоделирования суставного хряща (например, Matrix metalloproteinase-13 (MMP13), Collagen2A1) для более детальной характеристики тканевых эффектов?

Данное замечание носит рекомендательный характер и не умаляет качества полученных результатов исследования и направлено для улучшения качества дальнейших исследований по данной теме.

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.

Профессор кафедры травматологии,
Ортопедии и ВПХ института хирургии
ФГАОУ ВО РНИМУ им.Н.И.Пирогова
Минздрава России, ДМН, профессор

Лазишвили Г.Д.

Подпись профессора Лазишвили Г.Д.
Заверяю, ученый секретарь
ФГАОУ ВО РНИМУ им.Н.И.Пирогова
Минздрава России, КМН, доцент

18.02.2026



Демина О.М.