

Утверждаю

Директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский медицинский центр

Российской академии наук»

академик РАН, д.б.н., проф.

Степанов В.А.

2025 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

О научно-практической значимости диссертационной работы Назарова Кирилла Вячеславовича «Иммунорегуляторная функция эритробластов: экспрессия иммуноактивных молекул в модуляции фенотипа лимфоидных клеток» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Актуальность темы диссертационной работы

В современной научной литературе идёт активное рассмотрение участников и механизмов регуляции функций клеток иммунной системы. Показано, что множество клеток, как гемопоэтического (например, миелоидные прогениторные клетки), так и не гемопоэтического происхождения (например, мезенхимальные стромальные/стволовые клетки) являются активными регуляторами клеток иммунной системы. Регуляция функций иммунной системы организма – это важный физиологический процесс, нарушения этого процесса наличествуют при различных иммуно-опосредованных патологиях, таких как онкологические, аутоиммунные заболевания, нарушения кроветворения и другие. Данная работа посвящена рассмотрению иммунорегуляторной функции эритроидных прогениторных клеток мышцы. Важно отметить, что эритроидные клетки (эритробласты) широко представлены в опухолевом микроокружении, что показано как в модельных состояниях на мышах, так и в опухолевой ткани у человека, поэтому изучение новых функций вышеупомянутых клеток представляется весьма актуальным.

Соответствие специальности

Данная диссертация соответствует паспорту специальности 3.2.7. Иммунология (направление 1. Фундаментальные исследования, посвященные изучению строения, и функционирования иммунной системы, ее онто- и филогенеза; направление 2. Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии; направление 3. Изучение молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противопаразитарной иммунной защиты).

Основные результаты диссертационной работы

В представленной работе показаны следующие результаты. Проведено широкое исследование транскрипционной активности эритробластов с целью выяснения спектра мРНК иммуноактивных белков экспрессируемых эритробластами. Обнаружено, что эритроидные ядродержащие клетки экспрессируют гены хемокинов, хемокиновых рецепторов, МНС 2 класса, гены белков с антимикробной активностью, а также иные гены, белковые продукты которых участвуют в процессах реализации врожденного иммунного ответа. Транскрипционный профиль эритробластов меняется при гемопоэз-активирующих воздействиях. В частности, при гемолитической анемии и при острой

кровопотере замечено повышение экспрессии генов, белковые продукты которых участвуют в процессах реализации врожденного иммунного ответа, а при гипоксии – повышение экспрессии генов ряда иммунорегуляторных цитокинов. Анализ состава кондиционных сред на предмет секреции растворимых продуктов, в частности, цитокинов и хемокинов обнаружил, что продукция растворимых белков эритроблантами мышцы значимо не меняется при рассмотренных состояниях организма. Наиболее высокий уровень продукции замечен для некоторых хемокинов и цитокинов. Хемокины, продуцируемые эритроблантами, позволяют рассматривать эти клетки как активных участников в регуляции миграционных процессов гемопоэтических и иммунокомпетентных клеток. За счет продукции растворимых и поверхностных белков-медиаторов эритробланта способны оказывать регуляторное влияние на иммунокомпетентные клетки. Для выяснения этих эффектов было проведено сокультивирование иммунных клеток селезенки мышцы с кондиционными средами эритробластов. Обнаружено, что присутствие растворимых продуктов (кондиционных сред) эритробластов вызывает фенотипические изменения в лимфоцитах, в частности, в присутствии растворимых продуктов эритробластов происходит увеличение содержания PD1+CD19+ В-клеток и CD3+Foxp3+ Т-клеток среди селезеночных клеток мышей. Описанные эффекты кондиционных сред эритробластов на лимфоидные клетки мышцы можно считать одним из механизмов иммуносупрессорного действия эритроидных предшественников на иммунокомпетентные клетки. Также был исследован фенотипический состав эритробластов мышцы по поверхностным и внутриклеточным белкам. В ходе исследования были идентифицированы крупные CD45+ эритробланта с высокой гранулярностью цитоплазмы и CD45– эритробланта меньшего размера и низкой гранулярностью на разных этапах дифференцировки. При гемопоз-активирующих воздействиях в кроветворных органах мышцы происходит перераспределение клеток в структуре эритроидного ростка. Для CD45+ эритробластов при гемолитической анемии характерно увеличение поверхностной экспрессии галектина-9 и лиганда клеточной смерти PDL1, белков с иммуносупрессивными свойствами. Для CD45– эритробластов характерна преимущественная продукция TGFβ, которая кратно увеличивается при гемолитической анемии. Эти данные говорят о неоднородности ядродержащих клеток эритроидного ряда, характеризующими различиями в экспрессии и продукции иммунорегуляторных белков.

Достоверность полученных результатов

Диссертационная работа Назарова К.В. представляет собой исследование, направленное на выявление и раскрытие новых свойств эритроидных клеток. Исследование основано на внимательном изучении научной литературы по этой узконаправленной теме, в том числе работ российских ученых предшественников, на грамотном планировании экспериментов, применении разнообразных современных методов молекулярной и клеточной биологии. Полученные в ходе работы данные были подвергнуты глубокому статистическому анализу с применением методов биоинформатики. Полученные результаты являются статистически значимыми. Сделанные выводы основаны на адекватно интерпретированных данных.

Научная новизна

Впервые показана в эритроблантах мышцы экспрессия генов хемокинов и хемокиновых рецепторов, экспрессия генов белков с антимикробной активностью, вовлеченных в реализацию врожденного иммунного ответа; показаны органоспецифические отличия в транскриптом эритробластов мышей: эритроидные клетки костного мозга экспрессируют больше мРНК генов антимикробных белков, а эритроидные клетки селезенки экспрессируют достоверно больше мРНК генов МНС 2 класса, а также CD274. Показаны изменения в транскриптом эритробластов мышей, подвергнутых гемопоз-

активирующим воздействиям. В частности, при гемопоз-активирующих воздействиях в эритроблестах костного мозга мышей повышается экспрессия генов Clec5a, Ctsg, белковые продукты которых участвуют в поддержании противомикробного иммунитета и ремоделировании межклеточного матрикса, а также некоторых цитокинов. Впервые показана продукция растворимых белков (хемокинов) эритроблестами в условиях *in vitro*, в частности, хемокинов CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL11. Описаны новые иммунорегуляторные эффекты на иммунные клетки *in vitro*, реализуемые эритроблестами, посредством секретируемых продуктов, а именно – увеличение содержания PD1+CD19+ В-клеток и CD3+Foxp3+ Т-клеток среди селезеночных клеток мышей. Впервые показаны новые фенотипические особенности CD45+ и CD45– эритроидных клеток мыши. CD45+ эритроблесты характеризуются большим клеточным размером и высокой гранулярностью, для них показана преимущественная поверхностная экспрессия белков с иммуносупрессивными свойствами – галектина-9 и PDL1. Для CD45– эритроблестов характерен меньший клеточный размер и низкая гранулярность, а также способность к синтезу преимущественно TGF β , по сравнению с CD45+ эритроблестами.

Теоретическая значимость работы

В данной диссертационной работе произведена разносторонняя характеристика синтетической и функциональной активности эритроидных ядросодержащих клеток, в частности, на уровне мРНК, на уровне продукции растворимых белков, а также оценка поверхностной и внутриклеточной экспрессии иммуноактивных молекул. Продемонстрированные результаты показывают новые свойства и возможности эритроблестов, некоторые из которых ранее не были описаны в научной литературе. Описанные в данной работе результаты выдвигают вопросы о дальнейшем исследовании свойств эритроблестов, а именно о способности к регуляции процессов врождённого иммунного ответа, регуляции миграции клеток, регуляции активности гемопозитических стволовых клеток. В связи с вышеизложенным данная работа представляется важным вкладом в развитие этого научного направления.

Научно-практическая значимость работы

Диссертационная работа имеет высокую научно-практическую значимость, так как полученные в данной работе результаты дополняют уже имеющиеся знания об участии эритроблестов в различных иммунных процессах. В практическом аспекте эритроблесты имеют потенциал стать мишенью для терапевтического воздействия, в частности, при состояниях, сопровождающихся дисфункциями иммунной системы, такими как опухоли, привычное невынашивание, ревматоидный артрит, гематологические заболевания. Имеющиеся в литературе данные о присутствии эритроблестов в тканях плаценты, солидных опухолях и описанные в настоящей работе результаты позволяют предположить более значимую роль эритроблестов в регуляции иммунных процессов в норме и при патологических состояниях, что имеет существенную научную значимость. В дальнейшем эти результаты направят исследователей на более углубленное и расширенное понимание роли эритроблестов в поддержании иммуносупрессивного окружения, наблюдаемого при множестве различных патологий и других состояний, сопровождающихся перестройками в иммунной системе организма.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа написана в традиционном стиле и состоит из глав: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, список используемых сокращений, список используемой литературы. Диссертационная работа изложена на 135

страницах машинописного текста и включает в себя 28 рисунков. Список использованной литературы содержит 223 цитируемых источника.

В разделе «Введение» автор обосновывает значимость выбранной темы научного исследования, подводит к целям и задачам работы. Глава «Обзор литературы» хорошо структурирована, автор излагает литературные данные по выбранной тематике с привлечением разносторонних научных материалов российских и зарубежных исследователей. Глава «Материалы и методы» содержит подробное описание всех экспериментальных процедур. В главе «Результаты собственных исследований» автор описывает полученные экспериментальные данные, в частности, транскриптом эритробластов, спектр продукции цитокинов, хемокинов эритробластами *in vitro*, фенотипические особенности эритроидных ядросодержащих клеток, эффекты растворимых продуктов эритробластов на иммунные клетки *in vitro*. Глава «Обсуждение» содержит интерпретации полученных данных с привлечением литературных научных источников. Сделанные в итоге выводы сопоставлены с декларируемыми в начале работы задачами и основаны на полученных результатах.

Материалы диссертации были опубликованы в 6 статьях в научных журналах, которые включены в перечень рецензируемых периодических научных изданий, рекомендованных для опубликования основных научных результатов докторских и кандидатских диссертаций (названия журналов: «Иммунология», «Медицинская иммунология», «PlosOne» и др.). Также диссертант неоднократно представлял результаты диссертационной работы на российских научных конференциях, в том числе с международным участием («Дни иммунологии в Санкт-Петербурге 2023», «OpenBio 2024» и др.)

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний, снижающих научно-практическую ценность диссертационной работы, нет. Однако, в ходе дискуссии хотелось бы задать следующие вопросы диссертанту:

1. Почему при различных гемопоз-активирующих воздействиях (гемолитическая анемия, кровопотеря, гипоксия) изменения транскриптома эритробластов имеют разную степень выраженности, и какие сигнальные пути, по мнению автора, могут лежать в основе этих различий?

2. Какова функциональная значимость выявленной гетерогенности CD45+ и CD45- эритробластов в норме и при патологии гемопоза, предполагается ли, что эти две популяции могут выполнять принципиально разные роли?

Заключение

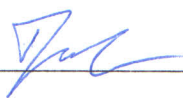
Диссертация Назарова Кирилла Вячеславовича «Иммунорегуляторная функция эритробластов: экспрессия иммуноактивных молекул в модуляции фенотипа лимфоидных клеток» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология является законченной научно-квалификационной работой, в которой решены важные задачи, имеющие существенное значение для иммунологии, а именно рассмотрена транскрипционная активность эритроидных клеток мыши, продукция растворимых иммуноактивных белков эритроидными клетками, состав некоторых поверхностных и внутриклеточных белков эритробластов, а также эффекты растворимых продуктов эритробластов на иммунные клетки селезенки мыши.

Диссертация полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (постановление Правительства РФ №842 от 24.09.2013 в действующей редакции постановления Правительства РФ от 16.10.2024 №1382), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Отзыв заслушан, обсужден и утверждён на заседании лаборатории иммунофармакологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», протокол заседания № 1 от 17.11.2025 г.

Отзыв составила:

Трофимова Евгения Сергеевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунофармакологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»


Трофимова Евгения Сергеевна
Дата: «9» декабря 2025 г.

Подпись Трофимовой Евгении Сергеевны заверяю

Ученый секретарь Томского НИМЦ, кандидат биологических наук

Хитринская Ирина Юрьевна




Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

634050, Россия, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10.

Телефон: 8 (3822) 46-95-66

e-mail: center@tnimc.ru