

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Заместитель генерального директора по науке  
ФГБУ «НМИЦ радиологии»

Минздрава России

профессор д.м.н. Б.Я. Алексеев

«12» *марта* 2023г.

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

**Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Макарова Максима Сергеевича «Биологические основы реализации регенеративного потенциала тромбоцитов человека», представленной к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология.**

#### **Актуальность темы выполненной работы**

В настоящее время идет активная разработка и исследование способности клеток человека стимулировать репаративные и регенеративные процессы в тканях. Для получения клеточных препаратов с высоким биологическим эффектом необходимо знать структурные и функциональные особенности клеток, влияние различных физических и химических факторов на их жизнеспособность и функциональную активность при разных условиях. Тромбоциты человека представляют собой особенные клетки, чей биологический потенциал позволяет им регулировать пролиферацию, миграцию и дифференцировку разных видов клеток, включая ангиогенез и передачу межклеточных сигналов. Тем не менее использование регенеративного потенциала тромбоцитов в научной и клинической практике до сих пор не оптимизировано. Тромбоциты являются высокореактивными клетками с повышенной чувствительностью к повреждающим факторам, при этом их компоненты участвуют в регуляции многих нормальных и патологических процессов. В то же время производство тромбоцитных препаратов чаще всего ведется без учета их биологических, в первую очередь, морфофункциональных характеристик. Тромбоциты обладают уникальными функциями, которые могут проявляться с разной

интенсивностью в разных условиях и в разном микроокружении. В связи с изложенным изучение биологических основ, механизмов и оптимальных условий реализации регенеративного потенциала тромбоцитов человека является актуальным как в научном, так и в практическом аспекте.

#### **Связь темы диссертации с планами отраслей медицинской науки**

Тема диссертации Макарова М.С. выполнена в соответствии с планом НИР ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» (№ темы 056.17.19, 144.20.22).

#### **Новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В работе на большом экспериментальном материале установлено, что морфофункциональные свойства тромбоцитов могут существенно варьировать у здоровых людей разных гендерных и возрастных групп. Автором изучены морфофункциональные особенности тромбоцитов в зависимости от скорости их адгезии на стекле, а также влияние режимов центрифугирования на морфофункциональный статус этих клеток. Исследованы морфофункциональные особенности тромбоцитов, активированных без использования стандартных индукторов агрегации. Впервые показана возможность стабилизации тромбоцитов на ранних стадиях адгезии с длительным сохранением тромбоцитарных гранул в их составе. Проведен подробный морфофункциональный анализ тромбоцитов, подверженных *in situ* воздействию видимого ультрафиолетового и красного света. Осуществлен анализ цитокинового состава тромбоцитных препаратов, полученных разными способами, и установлена достоверная взаимосвязь между уровнем ростовых факторов и морфофункциональными параметрами исходных тромбоцитов. Впервые показана возможность управляемой активации тромбоцитов человека и разработаны условия для её реализации. Впервые *in vitro* и *in vivo* показан рост-стимулирующий эффект тромбоцитов, стабилизированных наночастицами серебра. Исследован репаративный эффект коллагеновых матриц, насыщенных тромбоцитами, при лечении экспериментальных ран у лабораторных животных.

#### **Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационное исследование основано на изучении морфофункциональных особенностей тромбоцитов 320 доноров компонентов крови, 10 здоровых добровольцев, 80 аферезных тромбоцитных концентратов: исследовании биологической активности тромбоцитов при действии различных физических и химических факторов, цитокинового состава разных тромбоцитных препаратов, эффектов тромбоцитных



препаратов в культуре клеток *in vitro*, а также ранозаживляющих свойств тромбоцитных препаратов *in vivo* на модели экспериментального ожога III степени и глубокой раны у экспериментальных животных. Параллельно в работе сформированы и исследованы тромбоцит-содержащие коллагеновые матрицы, которые могут быть использованы при создании биологических конструкций в качестве раневых покрытий. Автором были использованы современные методы экспериментальной биологии, адекватные поставленным задачам: витального окрашивания клеток, световой и флуоресцентной микроскопии, морфометрии, цитометрии, иммуноцитохимии, статистического анализа. На основании полученных данных автором предложены принципиально новые подходы к реализации регенеративного потенциала тромбоцитов, а также оптимизированы известные методики получения тромбоцитных препаратов с сохранением морфофункциональных свойств тромбоцитов.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений, так как в работе последовательно и логично решены поставленные задачи с использованием комплекса современных методов, при достаточном объеме данных для каждой экспериментальной группы и количества групп сравнения, адекватном применении методов статистического анализа, критической оценке полученных результатов при сравнении их с данными современной литературы. Сформулированные автором выводы достоверны и логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования.

#### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Полученные автором диссертационной работы данные значительно расширяют представления о морфофункциональных свойствах тромбоцитов человека. В работе разработаны принципы использования морфофункциональных методик, основанных на витальном окрашивании клеток, для оценки суммарного биологического потенциала тромбоцитарного пула. Изучены морфофункциональные свойства тромбоцитов человека при действии неканонических факторов активации. Полученные данные расширяют представления о механизмах секреции тромбоцитных гранул. Показана возможность оценки цитокинового состава тромбоцитных препаратов с помощью морфофункционального исследования тромбоцитов до проведения всех обработок. Установлены факторы, которые влияют на пролиферацию и жизнеспособность диплоидных клеток *in vitro* в присутствии тромбоцитных компонентов. Изучено влияние разных режимов центрифугирования на качество тромбоцитов. Разработан способ получения при 20-22°C тромбофибринового сгустка, обладающего рост-

стимулирующим эффектом; разработан способ получения бесплазменного тромбоцитарного лизата с высоким содержанием ростовых факторов; разработаны подходы к насыщению коллагеновых матриц ростовыми факторами в составе тромбоцитов.

#### **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов работы**

Результаты исследования уже используются в процессе обучения по программам дополнительного профессионального образования «Исследование морфофункционального статуса тромбоцитов человека в научной и клинической практике», «Клеточно-тканевые технологии в неотложной медицине» в отделении биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ». Полученные в ходе диссертационной работы результаты внедрены в практику отделения гнойной хирургии ГКБ № 13 города Москвы и отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ». Целесообразно оформить некоторые из разработанных автором методик в качестве методических рекомендаций для отделений переливания крови.

**Личный вклад соискателя состоит в** планировании работы, проведении всех экспериментальных исследований с тромбоцитами, производстве трансплантатов, насыщенных тромбоцитами, микроскопическом исследовании витально окрашенных препаратов и гистологических препаратов, проведении иммуноцитохимических исследований, анализе полученных результатов и их статистической обработке, подготовке публикаций по выполненной работе.

Структура диссертации традиционная. Работа написана хорошим литературным языком, содержит высоко информативный графический материал, иллюстрирована микрофотографиями отличного качества.

Выводы диссертации соответствуют полученным результатам и задачам исследования. Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

Результаты исследования в полном объеме опубликованы в 30 научных работах, из них 25 статей в журналах, рекомендуемых ВАК РФ.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

#### **Заключение**

Диссертационная работа Макарова М.С. «Биологические основы реализации регенеративного потенциала тромбоцитов человека» является научно-квалификационным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические и практические



положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое научное достижение в области изучения биологических основ реализации регенеративного потенциала тромбоцитов человека.

Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, биотехнологии, регенеративной медицины.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Макарова М.С. соответствует требованиям пп.9 - 14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168, от 20 марта 2021 г. №426), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология, а автор заслуживает присвоения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология.

Отзыв обсужден на заседании № 2 от 23 марта 2023г. отделения прогноза эффективности консервативного лечения МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

Заведующая отделением прогноза  
эффективности консервативного лечения  
МНИОИ им. П.А. Герцена –  
филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии»  
Минздрава России,  
доктор биологических наук, профессор

 Сергеева Н.С.

Подпись д.б.н., профессора Сергеевой Н.С. «заверяю»

Ученый секретарь  
МНИОИ им. П.А. Герцена –  
филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии»  
Минздрава России



Жарова Е.П.

Московский научно-исследовательский институт имени П.А. Герцена – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России)  
Адрес: 125284, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, д.3  
Телефон: 8-495-945-80-20. E-mail: mnioi@mail.ru; http://www.mnioi.ru