

## ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Максима Сергеевича Макарова  
«Биологические основы реализации регенеративного потенциала тромбоцитов  
человека» на соискание ученой степени доктора биологических наук по  
специальности 1.5.22 - Клеточная биология**

### **Актуальность исследования**

Диссертационная работа Макарова М.С. посвящена актуальному исследованию биологических особенностей тромбоцитов человека, которые способны влиять на реализацию регенеративного потенциала этих клеток. Тромбоциты человека представляют собой уникальные биологические структуры, которые содержат большое количество факторов роста и дифференцировки клеток, ангиогенеза, цитокинов, необходимых для стимуляции процессов репарации. Тромбоциты широко используются в клинической практике, в работе с диплоидными клетками *in vitro*, при изготовлении биологических трансплантатов и конструкций. При этом методики стимуляции репаративных и регенеративных процессов с помощью тромбоцитов требуют значительной оптимизации. По данным литературы, компоненты тромбоцитов способны как стимулировать, так и подавлять репарацию, кроме того, во многих активностях тромбоцитов сопряжена с развитием патофизиологических процессов. При разных условиях тромбоциты человека проявляют разные формы активности, степень интенсивности этих процессов также значительно варьирует. Для эффективного использования биологического потенциала тромбоцитов критически важно понимать биологические особенности тромбоцитов, которые влияют на их активность и реализацию биологического потенциала. В работе используются методики исследования витально (прижизненно) окрашивания клеток с помощью флуоресцентной микроскопии. Такой подход позволяет одновременно оценивать внутренний состав клеток, их структурную целостность и функциональную активность без нарушения жизнеспособности. Используемый метод соответствует инновационным подходам в работе с клетками. При анализе тромбоцитов исследуется очень большое количество морфофункциональных параметров, что дает возможность подробно охарактеризовать активность тромбоцитов под действием различных факторов. Особый интерес представляют данные о способности ряда факторов стабилизировать тромбоциты в состоянии ранней активации и адгезии на стекле без потери тромбоцитарных гранул в течение длительного времени, что является несомненно актуальным в связи с отсутствием подобных данных в литературе.

Проводится большое число исследований эффекта тромбоцитных препаратов в культуре клеток человека, показаны критерии выбора эффективных доз тромбоцитов для стимуляции роста культивируемых клеток на пластике и на адгезивных субстратах. Приводится оригинальный способ оценки качества коллагеновых волокон в составе тканевых трансплантатов и тканях, что является очень интересным для гистологии и патоморфологии. Проводится исследование репаративного и регенеративного эффекта тромбоцит-насыщенных коллагеновых матриц на примере 2 экспериментальных моделей. Таким образом, работа Макарова М.С. содержит широкий спектр исследований, имеющих большую важность для изучения тромбоцитов человека и их регенеративного потенциала.

#### **Научная новизна работы**

В работе проведено обширное исследование морфофункциональных характеристик тромбоцитов до и после различных экспериментальных воздействий. Показаны морфофункциональные аспекты, определяющие разную скорость адгезии тромбоцитов. Изучены морфофункциональные особенности тромбоцитов, активированных без использования стандартных индукторов агрегации, а также перспективы использования неканонических способов активации тромбоцитов для получения тромбоцитных препаратов, насыщенных факторами роста. Впервые показана возможность стабилизации тромбоцитов на ранних стадиях адгезии и длительного сохранения тромбоцитарных гранул в их составе. Изучено влияние лазерного света в видимой части светового диапазона на морфофункциональный статус тромбоцитов, показаны возможности активации тромбоцитов с помощью низкоимпульсного лазерного излучения. Проведен анализ цитокинового состава тромбоцитных препаратов, полученных разными способами, установлена корреляция между уровнем ростовых факторов и морфофункциональными параметрами исходных тромбоцитов. Впервые *in vitro* и *in vivo* показан рост-стимулирующий эффект тромбоцитов, стабилизированных наночастицами серебра. Предложен оригинальный способ оценки структурной целостности коллагеновых волокон, основанный на регистрации автофлуоресценции коллагена. Изучен репаративный эффект коллагеновых матриц, насыщенных тромбоцитами, при лечении экспериментальных ран у лабораторных животных.

#### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Полученные данные расширяют представление о структурно-функциональных особенностях тромбоцитов человека, предлагают новое направление по изучению и использованию биологического потенциала тромбоцитов. В работе установлены принципы использования методик, основанных на витальном окрашивании клеток, для

оценки суммарного биологического потенциала тромбоцитарного пула. Изучены формы проявления тромбоцитами активности под действием неканонических индукторов. Полученные данные расширяют представление о механизмах секреции тромбоцитарных гранул. Показана возможность оценки цитокинового состава тромбоцитарных препаратов с помощью морфофункционального исследования тромбоцитов до проведения всех обработок. Установлены факторы, которые влияют на пролиферацию и жизнеспособность диплоидных клеток *in vitro* в присутствии тромбоцитарных 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, показана возможность использования тромбоцитов для лечения ожоговых и глубоких механических ран.

Автореферат в полном объеме отражает полученные результаты исследования. Выводы четко сформулированы, корректны и не противоречат результатам, изложенным в автореферате. По теме диссертации опубликовано 69 работ, 25 из которых – статьи в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук. Материалы диссертации доложены на международных и всероссийских конференциях.

Принципиальных замечаний по работе нет.

Таким образом, диссертационная работа Макарова М.С. «Биологические основы реализации регенеративного потенциала тромбоцитов человека», выполненная при консультации д.м.н. профессора Хватова О.Б., является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические и практические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое крупное научное достижение в области изучения биологических основ реализации регенеративного потенциала тромбоцитов человека. По актуальности, новизне, научному и методическому уровню, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Максима Сергеевича Макарова соответствует требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор заслуживает

присуждения ему ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология.

Дата 25 апреля 2023 года

Профессор, д.б.н., заведующий лабораторией генетики стволовых клеток ФГБНУ «Медико-генетического научного центра имени академика Н.П. Бочкова», (115522, Россия, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1) [dvgoldshtein@gmail.com](mailto:dvgoldshtein@gmail.com), тел.: +7(985) 233-56-11.

Д.В. Гольдштейн

Данные об авторе:

Гольдштейн Дмитрий Вадимович, доктор биологических наук (1.5.22 – клеточная биология), профессор, заведующий лабораторией генетики стволовых клеток ФГБНУ «Медико-генетического научного центра имени академика Н.П. Бочкова», (115522, Россия, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1) [dvgoldshtein@gmail.com](mailto:dvgoldshtein@gmail.com) тел.: +7(985)233-56-11.

Подпись Дмитрия Вадимовича Гольдштейна заверяю:

