

## 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. В тромбоцитах человека содержится большое количество факторов роста и дифференцировки клеток, ангиогенеза, цитокинов, которые потенциально имеют большое значение для стимуляции процессов репарации и регенерации поврежденных тканей. Тромбоциты широко используются в клинической практике, в работе с диплоидными клетками *in vitro*, при изготовлении биологических трансплантатов и конструкций. При этом методики стимуляции репаративно-регенеративных процессов с помощью тромбоцитов требуют значительной оптимизации. По данным литературы, тромбоциты 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 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. Очень интересными являются данные о способности ряда факторов стабилизировать тромбоциты в состоянии ранней активации и адгезии на стекле без высвобождения тромбоцитарных гранул в течение длительного времени. Следует отметить большое число проведенных

исследований специфической активности тромбоцитарных препаратов в культуре клеток человека, показаны критерии выбора эффективных доз тромбоцитов для стимуляции роста культивируемых клеток на пластике и на адгезивных субстратах. Разработан и экспериментально обоснован оригинальный способ оценки качества коллагеновых волокон в составе тканевых трансплантатов и тканях, что является очень интересным для гистологии и патоморфологии. На примере двух экспериментальных моделей проведена оценка репаративно-регенеративного эффекта тромбоцит-насыщенных коллагеновых матриц. Таким образом, работа Макарова М.С. содержит широкий спектр исследований, имеющих большое значение для изучения регенеративного потенциала тромбоцитов человека.

#### **Научная новизна работы**

В работе проведено обширное исследование морфофункциональных характеристик тромбоцитов до и после различных экспериментальных воздействий. Установлены морфофункциональные факторы, 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 тромбоцитарных препаратов, насыщенных факторами роста. 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 тромбоцитарных препаратов, полученных разными способами, установлена корреляция между уровнем ростовых факторов и морфофункциональными параметрами исходных тромбоцитов. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* доказан рост-стимулирующий эффект тромбоцитов, стабилизированных наночастицами серебра. Предложен оригинальный способ оценки структурной целостности коллагеновых волокон, основанный на регистрации автофлуоресценции коллагена. Установлено репаративно-регенеративное действие коллагеновых матриц, насыщенных тромбоцитами, в экспериментальной модели ран у лабораторных животных.

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

Полученные данные значительно расширяют представление о морфофункциональных свойствах тромбоцитов человека. В работе установлены принципы использования морфофункциональных методик, основанных на витальном

тромбоцитарного пула. Изучены морфофункциональные свойства тромбоцитов человека при действии неканонических факторов активации. 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 26 апреля 2023 года

Директор Автономной некоммерческой организации «Институт медико-биологических исследований и технологий», доктор биологических наук, профессор (123182, Россия, г. Москва, Б. Тишинский пер., д. 43/20, стр. 2)  
viksev@yandex.ru, тел: 8 (926) 607 6613


  
Севастьянов В.И.

Данные об авторе:

Севастьянов Виктор Иванович, доктор биологических наук (1.5.2 – биофизика), профессор, директор Автономной некоммерческой организации «Институт медико-биологических исследований и технологий» (123182, Россия, г. Москва, Б. Тишинский пер., д. 43/20, стр. 2)  
viksev@yandex.ru, тел: 8 (926) 607 6613

Подпись Виктора Ивановича Севастьянова заверяю:

Начальник отдела кадров АНО «ИМБИИТ»

  
Маланцева Л.И.

Дата 26 апреля 2023 года

