

университет имени акад. И.П. Павлова»

Российской Федерации

А.Д. Кулагин

90
d
90

« »



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научной и практической значимости диссертации Кищенко Василия Васильевича на тему «Лабораторные маркеры оценки функциональной активности тромбоцитов при хранении тромбоцитного концентрата», представленной к защите в диссертационный совет 04.1.001.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» Министерства Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Кищенко В.В. посвящена поиску лабораторных маркеров для оценки функциональной активности тромбоцитов при хранении тромбоцитного концентрата, который в настоящее время широко используют для восполнения уровня тромбоцитов у пациентов с их сниженным количеством или сниженной функцией. Исследование морфологических, иммунологических и молекулярно-генетических маркеров функционального состояния клеток в тромбоцитном концентрате представляет собой важную медико-биологическую задачу. Так как при переливании тромбоцитного концентрата существует риск передачи реципиенту патогенных

микроорганизмов, то к условиям приготовления и хранения тромбоцитных концентратов предъявляются жесткие требования. Однако не смотря на контроль и постоянное улучшения процессов получения и хранения компонентов крови, до 7% переливаний тромбоцитного концентрата сопровождаются неблагоприятными трансфузионными реакциями. При этом частота возникновения лихорадочных реакций напрямую зависит от срока хранения тромбоцитного концентрата перед трансфузией. В настоящее время на этапе производства тромбоцитных концентратов осуществляется контроль за отдельными лабораторными показателями, а именно за количеством тромбоцитов, остаточным содержанием лейкоцитов, pH и стерильностью. Следует отметить, что данные показатели имеют отношение к безопасности тромбоцитных концентратов, но не к их функциональным возможностям. Для эффективности трансфузий важно оценивать функциональное состояние клеток в тромбоцитном концентрате, поскольку нарушение функции тромбоцитов снижает их гемостатическую активность и ускоряет их клиренс из кровотока реципиента. Существует целый ряд методов для оценки функциональной активности тромбоцитов, но ни один из них в настоящее время не подходит для рутинного использования в клинической практике для оценки качества тромбоцитных концентратов.

Автор диссертационной работы подробно останавливается на существующих проблемах в данной области исследований и, исходя из анализа существующих научных публикаций и методов изучения функциональной активности тромбоцитов, формулирует следующие цели и задачи диссертационного исследования: определить лабораторные морфологические, иммунологические и молекулярно-генетические маркеры функционального состояния клеток в тромбоцитном концентрате для оценки его качества на разных сроках хранения, для чего планируется:

1. Проанализировать морфологические изменения клеток тромбоцитного концентрата с помощью сканирующей электронной микроскопии низкого напряжения в процессе его хранения.

2. Разработать способ получения фракций различных типов мембранных везикул, содержащихся в тромбоцитном концентрате.

3. Охарактеризовать изменения функционального состояния тромбоцитов и мембранных везикул в процессе хранения тромбоцитного концентрата иммунологическими, биохимическими и молекулярно-генетическими методами.

4. На основе выявленных лабораторных маркеров функционального состояния тромбоцитов разработать протокол оценки состояния клеток в тромбоцитном концентрате при хранении для оценки его качества.

Таким образом, актуальность темы диссертационного исследования Кишенко Василия Васильевича на тему «Лабораторные маркеры оценки функциональной активности тромбоцитов при хранении тромбоцитного концентрата» не вызывает сомнений, обоснование цели работы логично, решение поставленных задач имеет как фундаментальное, так и прикладное значение, и соответствует специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки).

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Кишенко В.В. основана на достаточном количестве биологического материала – образцов тромбоцитных концентратов на разных сроках хранения, а также на глубоком анализе литературных данных, который приведен в разделе «Обзор литературы». В обзоре литературных данных подробно описано строение и функции тромбоцитов, существующие методы оценки функциональной активности тромбоцитов, способы получения тромбоцитного концентрата, требования к его качеству, причины повреждения клеток при хранении тромбоцитного концентрата и возможные клинические последствия такого повреждения. Следует отметить раздел, подробно описывающий внеклеточные микрочастицы тромбоцитов и их свойства.

В ходе экспериментов последовательно анализируются компоненты тромбоцитного концентрата – клетки и внеклеточные везикулы, начиная с визуализации, далее – оценка функциональной активности, количественный анализ внеклеточных микровезикул, протеомный анализ фракций тромбоцитного концентрата и молекулярно-генетическое исследование профиля регуляторных микроРНК. Все исследования проводились дважды – сразу после приготовления препарата крови и через 7 дней хранения, что позволило оценить изменение морфологических, иммунологических и молекулярно-генетических маркеров функционального состояния клеток в тромбоцитном концентрате в динамике. Полученные результаты отвечают современным взглядам на изучаемую проблему и согласуются с публикациями по данной тематике.

Следует подчеркнуть использование в диссертационной работе широкого спектра современных высокотехнологичных лабораторных методов, включающих сканирующую электронную микроскопию низкого напряжения, высокочувствительную проточную цитометрию, иммуноблоттинг, полимеразную цепную реакцию в реальном времени, а также дифференциальное ультрацентрифугирование на преаналитическом этапе подготовки клеток и внеклеточных микровезикул к исследованиям. Все использованные методы и подходы подробно описаны в разделе «Материалы и методы».

Выводы диссертации являются обоснованными, логически вытекают из полученных результатов и соответствуют задачам исследования. Положения, выносимые на защиту, сформулированы четко, отражают суть полученных в ходе выполнения диссертационного исследования результатов.

Достоверность и новизна

Диссертационное исследование выполнено на высоком методическом уровне. Дизайн экспериментов продуман, преаналитический этап тщательно выверен – подобраны оптимальные режимы центрифугирования для получения фракций тромбоцитного концентрата, содержащих как сами

тромбоциты, так и отделяемые от них внеклеточные микровезикулы и экзосомы. В ходе экспериментов исследовано достаточное количество образцов тромбоцитного концентрата для проведения адекватной статистической обработки результатов. Статистическая обработка полученных результатов проведена грамотно и корректно, применяемые методы статистического анализа полностью соответствуют поставленным задачам.

Автором диссертационной работы соблюдены правила научных исследований и принципы биоэтики.

Все вышеперечисленное позволяет сделать заключение о высокой достоверности полученных данных.

Диссертантом впервые определены лабораторные маркеры для оценки качества тромбоцитного концентрата в процессе хранения и разработан протокол лабораторного исследования для внедрения в клиническую практику. При этом впервые использован комплексный анализ тромбоцитного концентрата иммунологическими, биохимическими и молекулярно-генетическими методами с использованием современного высокотехнологичного оборудования, включая сканирующую электронную микроскопию низкого напряжения и высокочувствительную проточную цитометрию. Диссертант впервые дал морфологическую характеристику тромбоцитного концентрата и визуализировал отделение внеклеточных микровезикул с терминального конца псевдоподий активированного тромбоцита в тромбоцитном концентрате на поздних сроках его хранения. Было показано, что процесс микровезикуляции клеток в тромбоцитном концентрате усиливается в процессе хранения. Кроме того, впервые показано изменение количества микроРНК в клетках и внеклеточных микровезикулах как молекулярно-генетический маркер состояния тромбоцитов при хранении тромбоцитного концентрата.

Результаты исследования были представлены в виде устных и стендовых сообщений на десяти российских и международных конгрессах и

симпозиумах. По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, из них 4 статьи - в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований и в международной базе Scopus.

Таким образом, достоверность и новизна диссертационного исследования Кищенко В.В. не вызывает сомнения, а полученные результаты и сформулированные на их основе выводы и практические рекомендации соответствуют паспорту специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, в том числе п. 1 «Определение качественных и количественных характеристик морфологических, химических и других параметров биологических материалов», п. 2 «Оптимизация и разработка новых методов исследования химического и клеточного состава биоматериалов, определение требований и показаний к условиям их применения», п. 4 «Разработка методов оценки физиологических лабораторных параметров организма и состава биологических жидкостей», п. 5 «Разработка теоретической базы для поисковых диагностических программ», п. 8 «Морфологические исследования биоматериала» и п. 11 «Молекулярно-генетические методы исследований».

Теоретическая и практическая значимость

Практическая значимость данного диссертационного исследования состоит в разработке протокола, позволяющего оценить функциональное состояние тромбоцитов и их жизнеспособность на основе анализа внеклеточных микровезикул. Новые лабораторные маркеры оценки функционального состояния тромбоцитов имеют существенное практическое значение, так как позволяют получать больше клинически значимой информации о состоянии клеток в тромбоцитном концентрате и применять персонализированный подход к трансфузионной терапии в зависимости от клинических задач.

Комплексная биохимическая и молекулярно-генетическая оценка содержимого тромбоцитов и выделяемых ими везикул, изменение состава

ряда белков и микроРНК в процессе активации тромбоцитов при хранении тромбоцитного концентрата и другие, полученные в диссертационном исследовании фундаментальные данные обогащают знания о физиологии тромбоцитов и тромбоцитарных везикул и имеют теоретическую значимость.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа Кишенко В.В. построена по традиционному плану, изложена на 132 страницах машинописного текста и состоит из введения; обзора литературы; описания материалов и методов; результатов; обсуждения; выводов; практических рекомендаций; перспектив дальнейшей разработки темы; списка сокращений и списка литературы. Список литературы включает 160 источников, из них 17 отечественных и 143 зарубежных. Текст диссертации достаточно иллюстрирован 32 рисунками и содержит 2 таблицы.

Раздел «Введение» содержит полную информацию об актуальности, степени разработанности и научной новизне исследования, а также цели и задачах исследования. В разделе «Обзор литературы» показано хорошее знание научных публикаций по изучаемому вопросу, а также способность применить эти знания при планировании работы и постановке задач.

Раздел «Материалы и методы» подробно описывает способы получения тромбоцитных концентратов, используемых в работе, а также методы лабораторного анализа функционального состояния клеток в тромбоцитном концентрате.

Глава, описывающая результаты исследования, включает семь разделов, которые содержат полученные автором данные и раскрывают решение всех поставленных в работе задач.

Раздел «Обсуждение результатов» написан четко, содержит необходимую информацию о соответствии полученных диссертантом результатов и данных, опубликованных другими исследователями.

Положения, выносимые на защиту, соответствуют заявленной специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Выводы, изложенные Кищенко В.В., согласуются с поставленным заданием. По результатам исследования диссертантом сформулированы практические рекомендации, которые могут быть использованы в работе специалистов клинической лабораторной диагностики и врачей-трансфузиологов.

Диссертационная работа написана хорошим научным языком. Содержание автореферата полностью соответствует материалам диссертации.

**Рекомендации по использованию результатов и выводов,
полученных в диссертации**

Считаем целесообразным и применимым на практике внедрение разработанного диссертантом протокола оценки качества тромбоцитного концентрата на основе определения количества внеклеточных мембранных везикул с помощью проточной цитометрии как инструмента оценки качества концентрата перед трансфузией, при разработке новых методов получения и хранения препаратов крови.

Также рекомендуется использовать результаты диссертационного исследования в образовательном процессе медицинских ВУЗов по специальностям «клиническая лабораторная диагностика» и «трансфузиология», в дополнительном профессиональном образовании специалистов клинической лабораторной диагностики и врачей-трансфузиологов.

Результаты диссертационного исследования внедрены в практику работы станции переливания крови и в образовательный процесс кафедры лабораторной медицины с клиникой ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства».

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний к диссертационной работе Кищенко В.В. нет. При обсуждении на кафедральном заседании этого изящного, нетривиального исследования, сформировался, в порядке научной дискуссии, вопрос:

- в настоящее время предложено большое количество методов оценки качества тромбоцитарного концентрата, включая морфологическую оценку тромбоцитов, определение маркеров активации, агрегометрию, оценку митохондриальной активности, протеомный анализ, оценка микроРНК, а также биохимические показатели, такие как рН, уровень глюкозы и лактата. Почему в своей работе вы сделали акцент именно на исследовании тромбоцитарных мембранных везикул? В чем, по вашему мнению, преимущества данного подхода по сравнению как с традиционными методами контроля качества, так и с другими современными потенциальными маркерами функциональной активности тромбоцитов?

Заключение

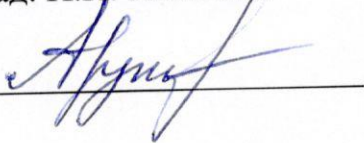
Диссертационная работа Кищенко Василия Васильевича на тему «Лабораторные маркеры оценки функциональной активности тромбоцитов при хранении тромбоцитного концентрата», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, является завершенной научно-квалификационной работой по актуальной теме определения лабораторных маркеров функционального состояния клеток в тромбоцитном концентрате, в которой решена актуальная научная задача оценки качества тромбоцитного концентрата на разных сроках хранения, имеющая существенное значение для здравоохранения в области клинической лабораторной диагностики.

По своей актуальности, объему выполненного исследования, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов, представленная диссертация полностью соответствует требованиям п.9-14

Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), а соискатель Кишенко Василий Васильевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 3.3.8 Клиническая лабораторная диагностика.

Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на заседании кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 5/2026 от 21 мая 2026 г.

Профессор кафедры
клинической лабораторной диагностики с курсом
молекулярной медицины ФГБОУ ВО
«ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»
Минздрава России
д.б.н., доцент



Александр Сергеевич Пушкин

21.05.2026г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

Телефон: 8 (812) 338-78-95, e-mail: info@lspbgmu.ru

Подпись руки заверяю: 
Ведущий документовед
Т.В. Пшеничникова
"21" 05 2026 г.

