

С приложением
22.05.2026 г. Пр. Е.А. Примакова

УТВЕРЖДАЮ

Директор государственного учреждения
РЦНЦ трансфузиологии и медицинских
биотехнологий

Ф.Н. Карпенко

«21» мая 2026 г.



ОТЗЫВ

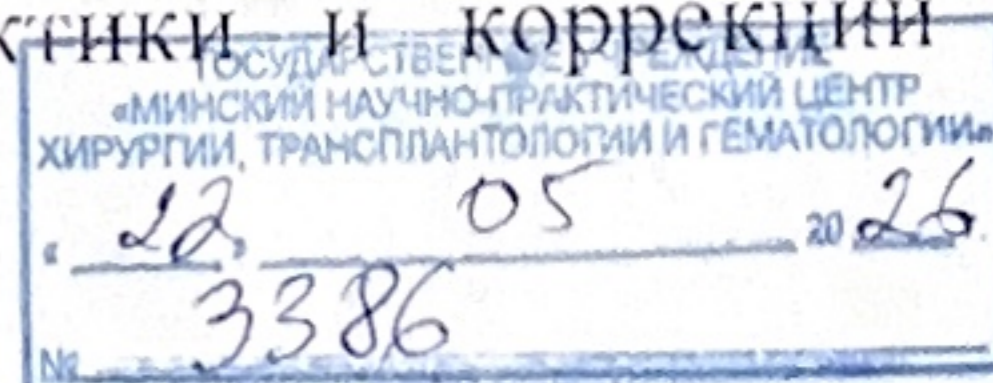
оппонирующей организации

на диссертацию Примаковой Евгении Алексеевны «Обоснование выбора мезенхимальных стволовых клеток для применения при острой реакции «трансплантат против хозяина» на основе оценки их иммунобиологических характеристик», представленной для защиты в Совет Д 03.03.01 при ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы (по отрасли «биологические науки»).

Соответствие содержания диссертации заявленной специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите

Диссертационная работа Примаковой Е.А. «Обоснование выбора мезенхимальных стволовых клеток для применения при острой реакции «трансплантат против хозяина» на основе оценки их иммунобиологических характеристик» выполнена на базе государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» под научным руководством доктора медицинских наук, профессора, заместителя директора по научной работе государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» Кривенко Светланы Ивановны.

Диссертационная работа по формулировке цели, задач, положений, выносимых на защиту, методологии исследования соответствует специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы (п. 5 «Изучение факторов, способствующих или препятствующих длительному и безопасному применению искусственных технических средств замещения, а также нативных изолированных органов и тканей, полученных от биологических доноров. Разработка методов контроля безопасности длительного замещения структуры и функции органов и тканей, направлений преодоления реакций тканевой несовместимости, методов создания временной или постоянной толерантности организма к чужеродным тканевым структурам и материалам», п. 8 «Изучение особенностей взаимодействия искусственных органов или донорских биологических трансплантатов с собственными системами жизнеобеспечения реципиента. Изучение этиологии, патогенеза, профилактики и коррекции



патологических реакций, связанных с биологической несовместимостью органов и тканей реципиента при внедрении в него чужеродных клеток и тканевых структур» и п. 14 «Профилактика, прогнозирование и лечение реакции отторжения донорских органов и тканей» паспорта специальности, утвержденного приказом Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 8 января 2024 г. № 6).

По характеру выполненного исследования и полученным результатам диссертационная работа соответствует отрасли «биологические науки».

Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости

Диссертационная работа Примаковой Е.А. «Обоснование выбора мезенхимальных стволовых клеток для применения при острой реакции «трансплантат против хозяина» на основе оценки их иммунобиологических характеристик» вносит значительный вклад в решение актуальной проблемы, заключающийся в определении дополнительных прогностических и диагностических критериев оРТПХ, а также в разработке метода выбора биомедицинского клеточного продукта (БМКП) на основе МСК для применения при оРТПХ с учетом биологических характеристик МСК, полученных от разных доноров, и функциональных особенностей лимфоцитов пациентов с оРТПХ.

Соискателем совместно с научным руководителем сформулированы цель и задачи исследования, а также определены методы и объем исследования. Автором лично выполнен анализ литературы по теме диссертационного исследования, проведен патентный поиск, созданы электронные базы данных, проведена статистическая обработка полученных данных, написаны все разделы диссертации. Соискателем получены основные научные результаты диссертации, сформулированы положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации.

Соискатель ученой степени принимал непосредственное участие в получении МСК из жировой ткани, постановке культур МСК, лимфоцитов пациентов после аллоТГСК и их совместных культур, смешанных культур доноров и реципиентов аллоГСК, а также в проведении иммуноферментного анализа для оценки продукции растворимых факторов в супернатантах клеточных культур, пролиферативного теста для определения функциональных свойств лимфоцитов периферической крови, подготовке БМКП на основе МСК для клинического применения (личный вклад – 90 %).

Содержащиеся в работе результаты собственных исследований автора являются **новыми и оригинальными**.

В результате проведенных исследований автором:

1. определена диагностическая значимость количественной оценки пролиферативной активности лимфоцитов донора и реципиента аллоГСК в смешанной культуре *in vitro* и установлены пороговые значения индекса стимуляции как прогностического фактора риска оРТПХ в

посттрансплантационном периоде. Доказано, что концентрация ИЛ-8 более 5,56 пг/мл и ИЛ-21 более 0,218 пг/мл в плазме крови пациентов после аллоТГСК является дополнительным критерием диагностики оРТПХ;

2. показано, что для реализации иммуномодулирующих свойств МСК посредством действия растворимой формы sHLA-G необходимо взаимодействие между МСК и лимфоцитами периферической крови;

3. предложена *in vitro* модель культивирования лимфоцитов пациентов с оРТПХ одновременно на подложках из нескольких культур МСК с последующей оценкой динамики субпопуляционного состава лимфоцитов;

4. научно обоснован подход к выбору БМКП на основе МСК, учитывающий их иммуномодулирующие свойства и функциональные особенности лимфоцитов пациентов и позволяющий персонализировать клеточную терапию оРТПХ.

Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости) за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень

К числу результатов, определивших научную значимость диссертационного исследования, относятся:

установление дополнительных критериев прогнозирования риска развития оРТПХ (значение индекса стимуляции лимфоцитов донора выше 9,20, а также лимфоцитов донора и реципиента в смешанной культуре выше 11,55 позволяют отнести данных пациентов в группу риска развития иммунологических осложнений после трансплантации аллоТГСК);

определение дополнительных диагностических признаков оРТПХ (концентрация ИЛ-8 >5,56 пг/мл и ИЛ-21 >0,218 пг/мл в плазме крови). Показано, что оРТПХ сопровождается увеличением концентрации ИЛ-8 и ИЛ-21 в плазме крови;

установление влияния взаимодействия между МСК и лимфоцитами периферической крови при их совместном культивировании на увеличение продукции sHLA-G в супернатантах клеточных культур и отсутствие влияния на содержание иммунорегуляторной молекулы Gal-1 *in vitro* по сравнению с интактными лимфоцитами;

установление влияния индивидуальных иммунобиологических особенностей лимфоцитов пациентов с оРТПХ и донорских МСК на направленность иммуномодулирующего действия последних, проявляющуюся перераспределением субпопуляций иммунокомпетентных клеток пациентов (Т-лимфоцитов, NK-клеток, Т-регуляторных клеток в популяции CD4⁺-клеток) при их совместном культивировании *in vitro*;

разработка метода выбора МСК, основанного на предварительной *in vitro* оценке влияния МСК на субпопуляционный состав лимфоцитов пациентов с оРТПХ с последующей оценкой изменений относительного содержания CD3⁺-лимфоцитов, CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов, CD8⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов,

CD4⁺CD25⁺CD127⁻-лимфоцитов на подложке из МСК по сравнению с интактными лимфоцитами, применение которого позволяет достигнуть полного или частичного клинического ответа на клеточную терапию более чем в 80% случаев.

Отражением практической реализации работы являются 2 акта внедрения в образовательный процесс и практическую работу ГУ «МНПЦ ХТиГ», утвержденная инструкция по применению «Методы медицинской профилактики и терапии реакции «трансплантат против хозяина» после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток» от 23.12.2022 г. рег. № 142-1222, а также разработка перечня рекомендаций по практическому использованию результатов диссертационного исследования:

1. в качестве критерия прогноза риска развития оРТПХ целесообразно использовать в день трансплантации ГСК количественную оценку пролиферативной активности лимфоцитов реципиента и донора в смешанной культуре, что позволяет определить степень их реактивности в посттрансплантационном периоде. Показатели индекса стимуляции лимфоцитов донора выше 9,20, а также лимфоцитов донора и реципиента в смешанной культуре выше 11,55 являются дополнительными факторами риска развития оРТПХ;

2. концентрации ИЛ-8 более 5,56 пг/мл и ИЛ-21 более 0,218 пг/мл в плазме крови пациентов после аллоТГСК в посттрансплантационном периоде являются дополнительными критериями диагностики оРТПХ, оценка которых позволяет персонифицировать тактику ведения пациентов после аллоТГСК;

3. при получении биомедицинских клеточных продуктов на основе МСК для иммунокоррекции оРТПХ, целесообразно оценивать уровни секреции sHLA-G и ИЛ-10 в смешанных культурах и отдавать предпочтение культурам с максимально высокими показателями данных иммуномодулирующих факторов;

4. для повышения эффективности иммунокоррекции при оРТПХ необходим персонифицированный подход к подбору БМКП на основе МСК с использованием предложенного метода предварительной *in vitro* оценки влияния МСК на субпопуляционный состав лимфоцитов пациентов в совместных культурах.

Социальная значимость результатов диссертационного исследования заключается в возможности улучшения качества оказания медицинской помощи в Республике Беларусь пациентам с оРТПХ с использованием персонифицированного подхода к подбору БМКП на основе МСК.

Приведенные данные свидетельствуют об использовании результатов диссертации, подтверждают ее научную, практическую и социальную значимость.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием современных лабораторных методов исследования.

Исследование проведено на репрезентативных выборках клеточных культур МСК ($n = 39$), лимфоцитов пациентов ($n = 42$) и их ко-культур ($n = 71$), а также супернатантов клеточных культур ($n = 78$), образцов плазмы пациентов после аллотГСК ($n = 63$) и здоровых доноров ($n = 9$). Реципиентами МСК являлись пациенты с ОРТПХ ($n = 12$).

В ходе исследования были использованы классические (выделение лимфоцитов из периферической крови, определение жизнеспособности, бактериологический контроль культур, морфологический анализ, культивирование клеток, иммуноферментный анализ.), так и современные (проточная цитофлуориметрия, пролиферативный тест, мультиплексный анализ и др.) методы лабораторных исследований, которые позволили реализовать поставленные задачи. Статистическую обработку полученных данных проводили общепринятыми для медико-биологических исследований непараметрическими методами статистического анализа, предназначенными для обработки данных, распределение которых отличается от нормального.

Результаты проведенного диссертационного исследования достоверны, полученные выводы и рекомендации по практическому использованию результатов исследования обоснованы.

Полнота опубликования основных положений и результатов диссертации

Основные положения проведенного исследования имеют достаточный уровень апробации и опубликованы в открытой печати. По материалам диссертации опубликованы 14 научных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, 1 статья в иных рецензируемых научных журналах, 7 тезисов докладов в сборниках научных работ, материалов конференций, съездов, конгрессов, из них 5 – в зарубежной печати, 1 инструкция по применению. Общий объем опубликованных материалов – 4,62 авторских листа.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени кандидата биологических наук

Диссертационное исследование Примаковой Е.А. построено по схеме, соответствующей требованиям ВАК Республики Беларусь, и по объему, новизне и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Поставленные в

диссертации задачи полностью соответствуют основным положениям, выносимым на защиту.

Представленная диссертация является завершенной научно-исследовательской работой, выполненной с применением современных методов лабораторных исследований, математической статистики, и содержит принципиально новые результаты, касающиеся выбора МСК для применения при ОРТПХ с учетом биологических характеристик не только МСК, но и лимфоцитов пациентов.

Доклад диссертанта и качество ответов на поставленные вопросы свидетельствуют об умении формулировать и обосновывать научные факты.

Личный вклад соискателя и качество проведенного исследования, уровень теоретической подготовки, владение современными методами исследования, способность анализировать и интерпретировать полученные результаты подтверждают соответствие научной квалификации Примаковой Евгении Алексеевны ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы.

Замечания по диссертации

Замечаний по диссертационному исследованию не имеется.

Вопрос: Какой экономический эффект от внедрения результатов диссертационного исследования?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация содержит новые научно обоснованные результаты, имеет практико-ориентированный характер и соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук (пункт 20 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», утвержденного Указом Президента Республики Беларусь 17 ноября 2004 г. № 560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь 2 июня 2022 № 190)), и может быть представлена к защите по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы.

Ученая степень кандидата биологических наук по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы может быть присуждена Примаковой Евгении Алексеевне за:

- установление дополнительных факторов риска развития ОРТПХ (показатели индекса стимуляции лимфоцитов донора выше 9,20, а также лимфоцитов донора и реципиента в смешанной культуре выше 11,55 в день трансплантации ГСК) и дополнительных диагностических критериев ОРТПХ (концентрация ИЛ-8 более 5,56 пг/мл и ИЛ-21 более 0,218 пг/мл в плазме крови);

- определение вклада взаимодействия МСК и лимфоцитов периферической крови пациентов после аллотГСК в продукцию иммунорегуляторных молекул sHLA-G и Gal-1 при их совместном культивировании *in vitro*;

- определение влияния индивидуальных иммунобиологических особенностей лимфоцитов пациентов с ОРПХ и донорских МСК на направленность иммуномодулирующего действия последних, проявляющуюся перераспределением субпопуляций иммунокомпетентных клеток пациентов (Т-лимфоцитов, NK-клеток, Т-регуляторных клеток в популяции CD4⁺-клеток) при их совместном культивировании *in vitro*;

- разработку методического подхода к выбору МСК, основанного на предварительной *in vitro* оценке влияния МСК на субпопуляционный состав лимфоцитов пациентов с ОРПХ (CD3⁺-лимфоцитов, CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов, CD8⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов, CD4⁺25⁺127⁻-лимфоцитов на подложке из МСК по сравнению с интактными лимфоцитами), применение которого позволило достигнуть полного или частичного ответа на клеточную терапию при ОРПХ более чем в 80% случаев.

Доклад Примаковой Е.А. и проект отзыва оппонировавшей организации, подготовленный экспертом, заслушаны и обсуждены в соответствии с приказом директора государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» № 166.1 от 07.05.2026 г. на расширенном заседании Ученого совета 19.05.2026 (протокол № 5).

Проведено открытое голосование по утверждению отзыва. На заседании научного собрания присутствовало 19 сотрудников, из них 2 доктора медицинских наук, 5 кандидатов медицинских наук, 6 кандидатов биологических наук, 6 сотрудников без ученой степени. В голосовании приняло участие 13 сотрудников, имеющих ученую степень.

Итоги голосования: «за» - 13 человек, «против» - нет, «воздержались» - нет.

Председатель расширенного заседания
Ученого совета:
директор РНПЦ трансфузиологии и
медицинских биотехнологий, к.м.н.

Ф.Н. Карпенко

Эксперт оппонировавшей организации:
заместитель директора по науке РНПЦ
трансфузиологии и медицинских
биотехнологий, к.б.н.

Е.Д. Расюк

Секретарь расширенного заседания
Ученого совета:
ученый секретарь РНПЦ
трансфузиологии и медицинских
биотехнологий, к.б.н.

В.В. Пасюков

ГУ «РНПЦ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ» МЗ РБ
Подпись В.В. Пасюков
Заведующий сектором кадров
И.И. Шеремин

ГУ «РНПЦ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ» МЗ РБ
Подпись Ф.Н. Карпенко
Заведующий сектором кадров
И.И. Шеремин

ГУ «РНПЦ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ» МЗ РБ
Подпись Е.Д. Расюк
Заведующий сектором кадров
И.И. Шеремин