

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, доцента Абакумовой Татьяны Владимировны на диссертационную работу Безрукова Николая Александровича на тему: «**Морфомеханический и функциональный статус нейтрофила в модели экспериментальной бактериемии**», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных.

Актуальность темы исследования. Последние годы ознаменовались значительным пересмотром функциональных свойств нейтрофилов, их срока жизни, а также локализации и движения в организме, в частности возможности мигрировать из очага воспаления обратно в кровяное русло. Многие аспекты многостороннего взаимодействия нейтрофилов с эндотелием и бактериями остаются малоизученными, в частности процесс морфомеханических и функциональных изменений нейтрофила при миграции вдоль сосудистого эндотелия и через эндотелиальный барьер при наличии различных хемотаксических градиентов. Исследование регуляции миграционной активности нейтрофилов, их морфофункциональных и механических перестроек при взаимодействии с эндотелием в присутствии и отсутствии хемоаттрактантов позволит: (1) расширить фундаментальные знания о механизмах трансэндотелиальной миграции, что является ключом к пониманию патогенеза воспалительных и аутоиммунных заболеваний; (2) разработать новые терапевтические подходы, направленные на модуляцию миграции нейтрофилов, что может стать основой для создания инновационных лекарственных препаратов и методов лечения; (3) оптимизировать диагностику нарушений иммунного ответа, связанных с дисфункцией нейтрофилов, что особенно важно для пациентов с хроническими инфекциями и аутоиммунными состояниями; (4) способствовать развитию персонализированной медицины, учитывая разнообразие субпопуляций нейтрофилов и их роль в индивидуальных реакциях организма. Таким образом, диссертационное исследование Безрукова Н.А. посвящено актуальной проблеме изучения миграционного процесса нейтрофилов при хемоаттракции различной природы с использованием новых ранее не применявшихся высокоразрешающих методов.

Научная новизна и практическая значимость исследования. Научная новизна исследования заключается в создании принципиально новых экспериментальных моделей для изучения миграции нейтрофилов с использованием высокоразрешающей микроскопии. Впервые установлено,

что в присутствии бактерий эндотелиоциты претерпевают специфические морфологические изменения, такие как уменьшение площади клеток и образование фибрилл, на которых нейтрофилы способны формировать внеклеточные ловушки. Продемонстрирована морфологическая и механическая неоднородность популяции нейтрофилов в процессе трансэндотелиальной миграции, а также выявлена направленная миграция клеток под действием бактериальных хемоаттрактантов, усиливаемая биохимическими стимулами. Методы высокоразрешающей микроскопии позволили впервые визуализировать феномен обратной миграции нейтрофилов и образование ими крупных агрегатов, формирующих «зоны входа» для диапедеза. Показано, что взаимодействие праймированных нейтрофилов с эндотелием приводит к активации эндотелиоцитов, синтезу активных форм кислорода и респираторному взрыву нейтрофилов. Активация эндотелия при этом носит накопительный характер и достигается лишь при множественных межклеточных контактах.

Практическая значимость работы состоит в разработке универсальных моделей миграции, применимых для изучения широкого спектра физиологических и патологических процессов, таких как миграция стволовых клеток, сепсис и метастазирование. Наноамперометрический метод, использованный в исследовании, позволяет количественно оценивать продукцию активных форм кислорода, что может быть использовано для диагностики активации или ингибирования клеток. Полученные данные о поведении нейтрофилов при трансэндотелиальной миграции открывают новые возможности для разработки терапевтических стратегий в рамках концепции контролируемого воспаления. Результаты исследования уже внедрены в учебный процесс ведущих университетов – ННГУ им. Н.И. Лобачевского и НГТУ им. Р.Е. Алексеева – и используются при подготовке студентов биологических, медицинских и инженерных специальностей.

Оценка содержания диссертации. Диссертация написана логично, грамотным языком и изложена на 153 страницах, содержит 65 рисунков и 6 таблиц.

Во введении обосновывается актуальность проводимого исследования, его научная новизна, а также излагается цель исследования: выявление морфофункциональных изменений нейтрофилов и эндотелиоцитов и вязкоупругих характеристик их мембран в процессе трансэндотелиальной миграции и миграции вдоль сосудистого русла в модели экспериментальной бактериемии. Грамотно формулируются задачи для достижения поставленной цели. На защиту выносятся 4 положения.

Основная часть работы состоит из 3 глав. В первой главе представлен обзор литературы, отражающий известные к настоящему моменту функциональные процессы, сопровождающие достижение нейтрофилом очага инфекции. Выделены основные пробелы в исследовании механизмов миграции, а также сформулирована важность изучения хемотаксических и миграционных свойств нейтрофилов. Во второй главе изложены методологические подходы. Работа выполнена с применением новейших методов высокоразрешающей микроскопии, позволяющих оценивать морфомеханические перестройки клеток и оценивать продукцию метаболитов индивидуальными клетками с минимальным влиянием на объекты исследования. Методика исследования описана детально. В третьей главе оцениваются результаты исследования, производится сравнение с полученными в последние годы литературными данными. Результаты изложены логично и последовательно, рисунки выполнены на высоком уровне. Проведен статистический анализ данных. Работа завершается заключением с общей схемой выявленной феноменологии и формулировкой выводов, соответствующих поставленным задачам.

Замечания и вопросы по диссертационному исследованию.

Вместе с тем, представленное диссертационное исследование не свободно от недостатков. В частности, нужно отметить, что Безруков Н.А. ставит очень много задач, некоторые из которых дублируют друг друга, равно как и в формулировке цели одновременно вводятся два близких по смыслу понятия «морфо-функциональные изменения» и «вязкоупругие свойства», что делает саму формулировку громоздкой. Аналогичная проблема отмечается и для выводов: они огромны и дублируют полученные результаты.

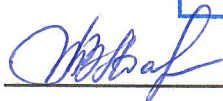
Кроме того, возникает целый ряд вопросов:

1. Что Вы понимаете под фразой, приведенной в формулировке актуальности темы «...преждевременная реализация воспалительных функций нейтрофилов в кровеносном русле...»? Обоснуйте ее.
2. Автор часто использует термин «активный нейтрофил», но нигде не приводит расшифровки этого термина. Каковы были критерии оценки активности нейтрофила?
3. Что такое «нейтрофильные привязи»?
4. Почему автор считает, что межклеточные контакты увеличивают продукцию АФК?
5. Что понимается под термином «праймированные нейтрофилы»? Как их получали? И по каким характеристикам отличали от непраймированных?

Заключение. Однако, несмотря на высказанные замечания и вопросы, нужно отметить, что диссертационное исследование Безрукова Н.А. представляет собой законченную научную работу, выполненную на высоком уровне. Исследование содержит новые научные результаты, обоснованные положения и выводы. Полученные сведения имеют теоретическую и практическую значимость и могут быть использованы как фундамент для дальнейших исследований миграции нейтрофилов в комплексных моделях для поиска новых мишеней регуляции неспецифической резистентности. По результатам исследования опубликовано 28 печатных работ, в том числе 12 статей в научных журналах, индексируемых базами данных Scopus и Web of Science, а также входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК. По новизне полученных результатов, их фундаментальной и практической значимости диссертационная работа Безрукова Николая Александровича соответствует требованиям действующей редакции «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор Безруков Николай Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных.

Доктор биологических наук,
доцент, профессор кафедры
физиологии и патофизиологии
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Ульяновский государственный
университет»



 /Абакумова Т.В.

email: abakumovav@ulsu.ru, taty-abakumova@yandex.ru

Организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ульяновский государственный университет», 432017 г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, д. 42

Тел.: +78422412088

Сайт: <https://www.ulsu.ru/ru/>