

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

кандидата биологических наук Ефремова Юрия Михайловича
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.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа Безрукова Н.А. посвящена комплексному исследованию морфомеханических и функциональных перестроек нейтрофилов в процессе миграции по хемотаксическому градиенту с использованием новейших высокоразрешающих методов. В работе созданы экспериментальные модели, адаптированные для применения сканирующей ион-проводящей микроскопии и наноамперометрии для изучения миграционных и активационных процессов нейтрофилов *in vitro*.

Актуальность темы исследования

Нейтрофилы являются ключевыми клетками врожденного иммунитета и первыми реагируют на бактериальную инфекцию, определяя исход воспалительного процесса. При хемотаксической миграции и бактериемии их функциональная активность (фагоцитоз, продукция активных форм кислорода, формирование NETs) тесно связана с изменениями морфологии и механических свойств клеток. В последние годы показано, что биомеханические характеристики клеток (модуль Юнга, вязкоупругость) отражают состояние цитоскелета и могут служить чувствительными маркерами активации, дисфункции и патологических изменений. При миграционных процессах также происходит механическое взаимодействие нейтрофилов с эндотелием. Использование современных

высокоразрешающих зондовых технологий, а именно сканирующей ион-проводящей микроскопии, дает возможность визуализировать тонкие морфомеханические изменения клеток и их взаимодействие на микро и наноуровне, в частности, автором показано образование необратимых адгезионных взаимодействий между нейтрофилом и фибриллярными отростками эндотелия, что вызывало срыв миграции. Продемонстрировано снижение модуля Юнга нейтрофила в процессе диапедеза через эндотелиальный монослой. Анализ продукции клеточных метаболитов на уровне индивидуальной клетки также продемонстрировал избирательность клеточной активации и необходимость множественных межклеточных контактов с предварительно активированными нейтрофилами для стимуляции сосудистого эндотелия. Также продемонстрировано влияние вида бактерии на характер клеточной активации и миграции нейтрофилов при бактериемии.

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

Диссертационная работа имеет высокую степень методологической проработанности, написана грамотным языком, структура изложения логична, результаты представлены наглядно. Применены современные экспериментальные подходы и методы анализа, обеспечивающие обоснованность научных положений и выводов. Автором был проанализирован значительный массив современных отечественных и зарубежных литературных источников (более 240 ссылок), посвященных физиологии нейтрофилов, их трансэндотелиальной миграции, хемотаксису, механизмам гибели и участию в различных заболеваниях человека. Этот анализ послужил надежной основой для формулировки гипотезы, постановки цели и задач исследования.

Достоверность полученных результатов и новизна исследования

Достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертационном исследовании, определяется комплексным подходом, применением современных экспериментальных методов и корректной статистической обработкой данных. Для решения поставленных задач был применён широкий спектр современных и взаимодополняющих методов: сканирующая ион-проводящая микроскопия, оценка жизнеспособности клеток, измерения энергетического потенциала и продукции активных форм кислорода в единичных клетках. Были разработаны модели вертикальной и горизонтальной миграции нейтрофилов, также с проточной системой. Полученные количественные данные были обработаны с использованием современных статистических методов с применением соответствующего программного обеспечения. Все положения, выносимые на защиту, находят свое подтверждение в представленных результатах и их интерпретации. Изложение логично и аргументировано. Проведена обширная апробация результатов. Опубликовано 28 печатных работ, в том числе 12 статей в научных журналах, индексируемых базами данных Scopus и Web of Science.

Таким образом, комплексный характер исследования, адекватно поставленные задачи и дизайн экспериментов, применение современных высокочувствительных методов и корректная статистическая обработка результатов позволяют сделать вывод о высокой степени новизны и достоверности полученных данных и обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные данные вносят вклад в расширение фундаментальных знаний о миграционных процессах нейтрофилов при хемотаксисе, а также отражает перспективы применения новых высокоразрешающих методов для

исследования комплексных процессов в организме на уровне единичных клеток.

Для практики значение работы потенциально высоко, но требует дальнейших исследований. Разработанные модели миграции потенциально могут быть использованы для исследования различных физиологических (например, миграции стволовых клеток, обратной миграции) и патологических процессов (сепсис, септицемия, метастазирование) с применением методов высокоразрешающей микроскопии. Выявленные закономерности поведения нейтрофилов при трансэндотелиальной миграции могут иметь значение для разработки новых терапевтических стратегий в рамках концепции контролируемого воспаления. На данном этапе практическая значимость работы подтверждается применением в учебном процессе в рамках курсов для студентов ННГУ им. Н.И. Лобачевского и НГТУ им. Р.Е. Алексеева.

Характеристика структуры и содержания диссертации

Работа представлена рукописью, содержит оглавление, список сокращений, введение, основную часть, заключение и список литературы. Введение отражает актуальность темы исследования, его научную новизну, формулирует цель исследования, задачи для ее выполнения и основные положения, выносимые на защиту. Основная часть разбита на 3 главы.

1. Глава 1 «Обзор литературы» отражает современное состояние исследований в области миграционных процессов нейтрофила в организме, а также отражает изменение функционального статуса нейтрофила в ходе жизнедеятельности. Отражены основные перспективы регуляции функционального состояния нейтрофилов в клинической практике.
2. Глава 2 «Материалы и методы исследования» подробно описывает примененные в работе методики, разработку систем исследования и процесс исследования.

3. Глава 3 «Результаты и обсуждение» наглядно отражает полученные данные в форме таблиц и рисунков. Проводится статистическая обработка полученных данных и их сравнение с литературными источниками.

Заключение исследования содержит выводы и общую физиологическую схему обнаруженной в процессе исследования феноменологии миграционных процессов нейтрофилов.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями, отражает основное содержание диссертации и раскрывает основные положения, выносимые на защиту.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

Хотя принципиальных замечаний к диссертационному исследованию нет, при изучении работы возник ряд вопросов, требующих пояснения:

- 1) В целях работы указана вязкоупругая характеристика мембран нейтрофилов, однако представлены значения только модуля Юнга, в модели с описанием клетки как упругого материала без вязкой компоненты. Сама примененная механическая модель описана не очень подробно. Вязкоупругие модели могут предоставить дополнительную информацию о свойствах мигрирующих клеток, и интересно проводились ли такие исследования на нейтрофилах ранее.
- 2) В разделе 3.2.2 автор указывает, что преимущественным путём миграции нейтрофилов служили межклеточные границы эндотелиоцитов. Однако, в данной экспериментальной системе эффект может быть обусловлен тем, что нейтрофилы скатываются в область межклеточных границ (впадины на топографии) под действием гравитации, что требует пояснения.
- 3) Вопрос к разработанной проточной модели миграции нейтрофилов. Автор указывает референсный ток жидкости в венулах в 20 мл/ч, это значение далее выставлялось в перистальтическом насосе. Однако, это объёмный расход жидкости, и так как геометрия (площадь поперечного

сечения чашки) не совпадает с сосудом, то гидродинамические условия и сдвиговые напряжения будут сильно различаться. Соответственно, остается вопрос насколько данные условия близки к условиям в сосуде.

- 4) Автор связывает часть наблюдаемых эффектов с истощением энергетических ресурсов нейтрофилов. Из описания методов следует, что нейтрофилы во время экспериментов находились в среде с глюкозой. Поэтому встает вопрос, могли ли нейтрофилы возобновлять свои энергетические ресурсы, могло ли это влиять на результаты и как соотносится с условиями *in vivo*.
- 5) На рисунке 46 и сопровождающем тексте автор демонстрирует движение нейтрофилов по эндотелию за счет «привязей». По литературным данным, диаметр «привязей» составляет порядка 0.3 мкм, поэтому не ясно, действительно ли они видны на представленном изображении, или, скорее видны эффекты от их наличия.


Заключение

Таким образом, диссертационная работа Безрукова Николая Александровича на тему: «Морфомеханический и функциональный статус нейтрофила в модели экспериментальной бактериемии» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена задача выявления морфо-функциональных изменений нейтрофилов и эндотелиоцитов и механических характеристик их мембран в процессе трансэндотелиальной миграции и миграции вдоль сосудистого русла в модели экспериментальной бактериемии. По своей актуальности, научной новизне и практической значимости результатов диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Безруков Николай Александрович заслуживает

присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук, заведующий отделом современных биоматериалов Института регенеративной медицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

 /Ефремов Юрий Михайлович

14.05. 2026 г.



Организация федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119048 г. Москва, ул. Трубецкая д. 8 стр. 2

Сайт: <https://www.sechenov.ru/>

Тел.: +74956091400

Электронная почта: rectorat@staff.sechenov.ru