

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.2.340.06, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО» МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 18.06.2026 г. № 5

О присуждении Безрукову Николаю Александровичу, гражданину России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Морфомеханический и функциональный статус нейтрофила в модели экспериментальной бактериемии» по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных принята к защите 26.03.2026 г., протокол № 4, диссертационным советом 24.2.340.06, созданным на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, приказ Минобрнауки РФ от 14 октября 2016 года № 1256/нк).

Соискатель, Безруков Николай Александрович, 27.01.1999 года рождения, в 2022 г. окончил магистратуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева» по направлению подготовки «19.04.01 Биотехнология». Диплом об образовании с отличием № 105205 0078152, регистрационный номер ХМ 1 выдан 07 июля 2022 года ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева». Сдал кандидатские экзамены по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных (биологические науки). Справка о сдаче кандидатских экзаменов №011/А от 24.02.2026 г. выдана ФГАОУ ВО «Национальным исследовательским Нижегородским государственным университетом им. Н. И. Лобачевского».

В период подготовки диссертации соискатель Безруков Н.А. работал с 2019 по 2026 годы в должности лаборанта, лаборанта-исследователя и младшего научного сотрудника в научно-исследовательской лаборатории сканирующей зондовой микроскопии научно-образовательного центра «Физики твердотельных наноструктур»

ФГАОУ ВО «Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского».

Диссертация Безрукова Николая Александровича «Морфомеханический и функциональный статус нейтрофила в модели экспериментальной бактериемии» выполнена на базе кафедры «Физиология и анатомия» Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национального исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского», и была рекомендована к защите на расширенном заседании кафедры «Физиология и анатомия» 24.02.2026 г, протокол №8.

Научный руководитель – **Плескова Светлана Николаевна** – доктор биологических наук, профессор, зав. лаб. НИЛ сканирующей зондовой микроскопии ФГАОУ ВО «Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского», профессор кафедры «Нанотехнологии и биотехнологии» Образовательно-научного института физико-химических технологий и материаловедения ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева».

Официальные оппоненты:

Абакумова Татьяна Владимировна – доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры физиологии и патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ульяновский государственный университет»,

Ефремов Юрий Михайлович – 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)

дали положительные отзывы на диссертацию.

В положительном отзыве официального оппонента **Абакумовой Татьяны Владимировны**, отмечается, что диссертационная работа Безрукова Николая Александровича посвящена решению актуальной задачи, а именно исследованию миграционного процесса нейтрофилов при хемоаттракции различной природы с использованием новых ранее не применявшихся высокоразрешающих методов. 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.

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.

Замечания, сделанные д.б.н., доц. Абакумовой Т.В.: 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.

Вопросы официального оппонента Абакумовой Т.В.:

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?

Несмотря на высказанные замечания и вопросы, официальный оппонент отмечает, 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.

В положительном отзыве официального оппонента **Ефремова Юрия Михайловича**, отмечается, что диссертационная работа Безрукова Николая Александровича посвящена комплексному исследованию морфомеханических и функциональных перестроек нейтрофила в процессе миграции по хемотаксическому градиенту с использованием новых высокоразрешающих методов. В работе созданы модели исследования, адаптированные для применения сканирующей зондовой микроскопии и наноамперометрии для изучения миграционных и активационных процессов нейтрофилов *in vitro*.

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. Также продемонстрировано влияние вида бактерии на характер клеточной активации и миграции нейтрофилов при бактериемии.

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.

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.

Вопросы официального оппонента Ефремова Ю.М.:

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.

Тем не менее, диссертационная работа Безрукова Николая Александровича «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 2013 г., 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.

В положительном отзыве, подписанном к.б.н., доцентом, деканом факультета биомедицины, директором Департамента медицинской биологии и биотехнологии Кумейко Вадимом Владимировичем и утвержденном д.б.н., проректором по научной работе ДВФУ Алексеем Валерьевичем Емельяновым от имени **ведущей организации**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», указывается, что диссертационная работа Безрукова Николая Александровича посвящена одной из фундаментальных и одновременно практически значимых проблем современной физиологии и иммунологии – регуляции миграционной активности нейтрофилов в процессе их трансэндотелиального взаимодействия. Актуальность выбранной темы не вызывает сомнений и определяется той исключительной ролью, которую нейтрофилы играют в поддержании гомеостатического баланса организма.

Не менее сложной и актуальной задачей, на решение которой направлена работа, является изучение влияния бактерий на реализацию механизмов миграции. Проблема трехстороннего взаимодействия «нейтрофил – эндотелий – патоген» остается белым пятном, несмотря на то, что именно в таких условиях часто происходит срыв нормальной регуляции диapedеза и развивается патология. Следовательно, исследование Безрукова Н.А., направленное на комплексную оценку морфологических, механических и функциональных перестроек нейтрофилов при взаимодействии с эндотелием в норме, при активации различными хемоаттрактантами, а также в присутствии бактерий, является своевременным и востребованным.

Впервые установлено, что основным вариантом изменения морфологии эндотелиоцитов в присутствии бактерий является уменьшение площади клеток и формирование ими фибриллярных структур, на которых, как впервые показано в работе, нейтрофилы способны формировать нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs). Данный факт представляет несомненный интерес для понимания механизмов врожденного иммунитета. Впервые продемонстрирована и документирована морфологическая и механическая неоднородность популяции нейтрофилов, проявляющаяся непосредственно в ходе реализации трансэндотелиальной миграции.

В отношении механизмов направленного движения клеток впервые выявлено, что направленная миграция нейтрофилов обусловлена бактериальными хемоаттрактантами и характеризуется видоспецифичностью, тогда как биохимические хемоаттрактанты выполняют вспомогательную роль, усиливая данный процесс. Метод высокоразрешающей микроскопии впервые позволил визуализировать феномен обратной миграции нейтрофилов, что следует отнести к несомненным методическим и фактологическим достижениям работы.

Существенное внимание в диссертации уделено коллективным формам поведения клеток. Впервые показано, что нейтрофилы в процессе миграции способны образовывать крупные агрегаты (в горизонтальной и проточной системах) или демонстрировать феномен роения (в вертикальной модели миграции). Установлено, что такое поведение клеток выполняет двоякую функцию: во-первых, оно приводит к формированию «зон

входа», облегчающих последующую миграцию нейтрофилов; во-вторых, возрастание числа праймированных нейтрофилов, взаимодействующих с эндотелиоцитами, вызывает активацию последних, что сопровождается синтезом ими активных форм кислорода и азота (АФК/АФА). Впервые зафиксирован респираторный взрыв праймированных нейтрофилов, возникающий непосредственно при адгезионном контакте с эндотелиальным монослоем.

Совокупность перечисленных результатов обладает несомненной научной новизной и вносит существенный вклад в понимание механизмов регуляции миграционной активности нейтрофилов.

Существенных замечаний к диссертационной работе не выявлено, обнаружен ряд неточностей, опечаток, синтаксических и стилистических ошибок, которые, однако, не мешают прочтению и пониманию работы, выполненной на высоком экспериментальном и теоретическом уровне.

Из стилистических недочетов отмечается стиль написания главы Материалы и методы, в которой «кровь разводилась...», «нейтрофилы промывались...», «нейтрофилы взвешивались...». В таких формулировках не совсем видна роль автора, если все объекты делали действия над собой самостоятельно. Более принятый стиль изложения предусматривает, что «кровь разводили...», «нейтрофилы промывали...», что касается «взвешивания нейтрофилов...» (можно предположить, что от слова «взвесь»), то автор сам далее поясняет, что в итоге была получена суспензия, и в таком случае следует указать, что «нейтрофилы ресуспендировали».

Обнаружено некоторое количество опечаток и некорректных расстановок знаков препинания, таких как на стр. 97 рукописи, где «были рповедены эксперименты...», а причастный оборот выделен не запятыми, а тире.

Из обнаруженных неточностей отмечается, что, не смотря на сильный набор статистических методов анализа, удачно выбранных и успешно примененных автором, в каждом из подразделов главы Материалы и методы следовало четко указать какое количество независимых биологических повторов было выполнено в каждом эксперименте. Чтобы понять это приходится проводить расследование в главе Результаты и обсуждение, причем не до конца остается понятным, что же такое «n» в ряде случаев – число отдельных клеток или чашек Петри с образцами культуры, или полей зрения, а также сколько именно брали для анализа клеток, исследованных трудоемким высокотехнологичным методом зондовой микроскопии в варианте СИПМ.

К неточностям можно отнести и отсутствие указателей (стрелок) на объектах исследования, где не всегда очевидно, на что именно обращает внимание автор и где та клетка, о которой он говорит. Местами текстовые пояснения о том про какую клетку идет

речь тоже ощущаются неоднозначными, так, например, на стр. 86 «обратное отдаление правой клетки от верхней».

«Формирование фибрилл... эндотелиоцитами» является не вполне удачным термином, поскольку в биологии фибриллами принято называть или надмолекулярные структуры, или, что реже, структуры, сформированные множеством клеток. Дальнейшее пояснение автора решает данный казус, поскольку автор уточняет, что речь идет о фибриллярных отростках клеток.

Отмечается, что автором впервые получен ряд уникальных результатов, раскрывающих динамику клеточных популяций при взаимодействии друг с другом в различных условиях, для чего им с успехом разработаны и адаптированы высокотехнологичные экспериментальные модели для изучения трансэндотелиальной миграции нейтрофилов. Как известно, любая модель имеет граничные условия и некоторые особенности, влияющие на трактовку результатов, которые в качестве дискуссионных вопросов предлагается обсудить автору.

1. С точки зрения автора с чем может быть связана выявленная бактериальная видоспецифичность миграционного ответа нейтрофилов? Какие компоненты бактериальных клеток или секретируемые факторы, вероятнее всего, определяют различия в направленности миграции, наблюдаемые, в частности, между *S. aureus* и *E. faecalis*? С учетом выбранной модели и лимита пропускания молекул через диализную камеру, которой задавали градиент, было бы интересным в порядке дискуссии узнать о потенциальных молекулярных кандидатах, градиент которых обусловил полученные результаты.

2. Внимательного обсуждения и дискуссии требуют результаты, полученные с использованием «биохимических хемоаттрактантов» (LTV4, ФНО α , LXA4), для которых как для будучи известных медиаторов воспаления, в других экспериментальных моделях (например, при инъекции *in vivo*) в ряде работ показан не только функциональный эффект, но и его зависимость от градиента. Поскольку автором диссертационного исследования показано, что самостоятельно эти молекулы не индуцируют направленной миграции нейтрофилов, а лишь усиливают ответ на бактериальные стимулы, то данная находка нуждается в более глубоком обсуждении. Следует учесть, что из выбранных хемоаттрактантов ФНО α является белком, проницаемость через диализную мембрану которого сильно ограничена, а лейкотриен и липоксин, хотя и являются малыми молекулами, но в силу своей гидрофобности с трудом переносятся в водной среде. Нельзя ли предположить, что в условиях использованной модели низкие концентрации, обусловленные плохим массопереносом, могли не сформировать достаточного для направленности клеток градиента, однако вызвали функциональный общий эффект, усиливающий действие бактериальных аттрактантов.

Диссертационная работа Безрукова Николая Александровича «Морфомеханический и функциональный статус нейтрофила в модели экспериментальной бактериемии» является завершённым, самостоятельно выполненным научно-квалификационным исследованием, посвящённым актуальной проблеме физиологии человека и животных – выяснению механизмов регуляции трансэндотелиальной миграции нейтрофилов в условиях бактериемии. По своей цели, задачам, методологическому уровню, объёму экспериментального материала, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук (в соответствии с действующими нормативными документами, в частности пп. 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 в актуальной редакции), а её автор, Безруков Николай Александрович, заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Соискатель имеет 28 печатных работ, в том числе 12 статей в научных журналах, индексируемых в базах Scopus и Web of Science, и 16 тезисов докладов на международных и всероссийских научных конференциях.

Опубликованные работы посвящены исследованию морфо-механических, функциональных и поведенческих изменений нейтрофилов в процессе миграции по хемотаксическому градиенту в смоделированных системах. Опубликованные работы в полной мере отражают результаты диссертационного исследования.

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в диссертации Безрукова Н.А. отсутствуют.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Pleskova, S.N. *S.aureus* and *E.coli* change the force and work of adhesion between P- and E-selectins of endothelial cells and ligands of neutrophil granulocytes / S.N. Pleskova, S.Z. Bobyk, R.N. Kriukov, **N.A. Bezrukov**, E.N. Gorshkova, P.I. Vasilchikov, D.V. Novikov, V.V. Novikov // *Micron*. – 2021. – Vol. 150. – 103139 (Q1).
2. Pleskova, S.N. *Staphylococcus aureus* causes the arrest of neutrophils in the bloodstream in a septicemia model / S.N. Pleskova, S.Z. Bobyk, R.N. Kriukov, E.N. Gorshkova, **N.A. Bezrukov**// *Microorganisms*. – 2022. – Vol. 10. – №9. – 1696 (Q2).
3. Pleskova, S.N. Exploring the process of neutrophil transendothelial migration using scanning ion-conductance microscopy / S.N. Pleskova, **N.A. Bezrukov**, E.N. Gorshkova, S.Z. Bobyk, E.V. Lazarenko // *Cells*. – 2023. – Vol. 12. – №13. – 1806 (Q1).

4. Pleskova, S.N. ROS production by a single neutrophil cell and neutrophil population upon bacterial stimulation / S.N. Pleskova, A.S. Erofeev, A.N. Vaneev, P.V. Gorelkin, S.Z. Bobyk, V.S. Kolmogorov, **N.A. Bezrukov**, E.V. Lazarenko // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11. – №5. – 1361 (Q1).
5. Pleskova, S.N. Differences in bacteria nanomotion profiles and neutrophil nanomotion during phagocytosis / S.N. Pleskova, E.V. Lazarenko, **N.A. Bezrukov**, S.Z. Bobyk, A.V. Boryakov, R.N. Kriukov // Frontiers in Microbiology. – 2023. – Vol.14. – 1113353 (Q1).
6. Pleskova, S.N. Changes in ROS/RNS levels in endothelial cells in experimental bacteremia / S. Pleskova, A. Vaneev, **N. Bezrukov**, A. Erofeev, S. Bobyk, V. Kolmogorov, P. Gorelkin, V. Mamed-Nabizade, E. Gorshkova // ChemBioChem. – 2024. – Vol. 25. – №18. – e202400341 (Q1).
7. Pleskova, S.N. Pathogenic *Escherichia coli* change the adhesion between neutrophils and endotheliocytes in the experimental bacteremia model / S.N. Pleskova, **N.A. Bezrukov**, S.Z. Bobyk, E.N. Gorshkova, D.V. Novikov // Microbial Cell. – 2024. – Vol. 11. – № 1. – P. 254-264 (Q1).
8. Pleskova, S.N. Cunning pathogen tactics: neutrophil movement influenced by bacterial attractants in the experimental model / S.N. Pleskova, **N.A. Bezrukov**, E.N. Gorshkova, E.V. Otsavnova, D.V. Novikov // Cellular Microbiology. – 2025. – Т. 2025. – № 1. – 8859162 (Q1).

На диссертацию и автореферат поступило 10 отзывов, все положительные. В отзывах указывается, что представляемая работа характеризуется высоким теоретическим и экспериментальным уровнем, по своей новизне и актуальности имеет большое научное и практическое значение, соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии. Отзывы получены:

1. от **Абакумова Максима Артемовича**, д.х.н., заведующего лабораторией «Биомедицинские наноматериалы» Федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС»». Без замечаний.
2. от **Ищенко Оксаны Владимировны**, д.м.н., профессора, заведующей кафедрой клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК Витебского государственного медицинского университета, Республика Беларусь. Без замечаний.
3. от **Кудан Елизаветы Валерьевны**, д.б.н., к.х.н., профессора Института биомедицинской инженерии Федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», в отзыве есть замечание: концентрации биологических объектов и химических агентов указаны не в полном объеме - для эндотелиоцитов указана лишь концентрация без указания объема, что не позволяет оценить количество клеток в монослое; для

биохимических аттрактантов LTB₄, LXA₄, ФНО α не указаны рабочие концентрации. Это затрудняет оценку экспериментов и их воспроизводимость, хотя не влияет на обоснованность выводов.

4. от **Кузнецовой Татьяны Георгиевны**, к.б.н, доцента кафедры морфологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Без замечаний.

5. от **Лопатиной Екатерины Валентиновны**, д.б.н., профессора, заведующей кафедрой нормальной физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации. Без замечаний.

6. от **Мезенцевой Елены Анатольевны**, к.б.н., доцента кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Без замечаний.

7. от **Нашекиной Юлии Александровны**, к.б.н., ведущего научного сотрудника Института цитологии Российской академии наук Федерального государственного бюджетного учреждения науки Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Замечаний нет, есть вопросы:

1) Существует ли механизм, объясняющий сохранение «зон входа», сформированных нейтрофилами, облегчая парацеллюлярную миграцию для следующих нейтрофилов и препятствующий быстрому закрытию этих зон самими эндотелиальными клетками?

2) В работе представлены несколько экспериментальных поверхностей, на которых изучали миграцию нейтрофилов. Чем обусловлена разная адгезионная способность нейтрофилов к поверхностям, которые были выбраны для данного экспериментального исследования? В случае миграции нейтрофилов по монослою клеток эндотелия есть ли объяснения выбора нейтрофилов определенной траектории движения, т.е. по какому принципу нейтрофилы выбирали определенные клетки эндотелия?

8. от **Сергуновой Виктории Александровны**, к.б.н., заведующей лабораторией биофизики мембран клеток при критических состояниях, доцента кафедры общей патологии Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии. Без замечаний.

9. от **Стародубцевой Марии Николаевны**, д.б.н., доцента, профессора кафедры медицинской и биологической физики УО «Гомельский государственный медицинский университет». Без замечаний.

10. от **Филиной Юлии Викторовны**, к.б.н., старшего научного сотрудника НИЛ «Трансляционная онкология» Института фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Казанский Приволжский федеральный университет». Без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован их соответствием критериям требований, изложенных в пп. 22 и 24 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842: являются компетентными по заявленной в диссертации специальности, имеют профильные публикации по проблеме диссертационного исследования и способны объективно оценивать актуальность темы диссертации, а также достоверность, теоретическую значимость и научно-практическую ценность полученных в работе результатов (сведения о них размещены на официальном сайте ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»: <https://diss.unn.ru/1628>).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны новые экспериментальные методики, позволившие впервые выявить преобразования эндотелия с образованием фибриллярных отростков, на которых фиксируются нейтрофилы при срыве трансэндотелиальной миграции, а также количественно определить продукцию активных форм кислорода и азота в единичных эндотелиоцитах и нейтрофилах в момент межклеточного контакта;

доказано, что сочетание бактериального и биохимического градиента хемоаттракции нейтрофилов усиливает их миграцию в сравнении с единичным стимулом; что нейтрофилы при миграции склонны к роению и образованию крупных «зон входа» в эндотелии; что в зависимости от функционального состояния и стадии миграции нейтрофилы имеют различные морфо-механические свойства;

доказана активация эндотелия и праймированных нейтрофилов при их межклеточном контакте, предшествующем трансэндотелиальной миграции.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что миграция нейтрофилов может быть сорвана из-за их необратимой адгезии на образующихся фибриллярных отростках;

доказано, что основным вариантом изменения морфологии эндотелиоцитов в присутствие бактерий является уменьшение площади клеток и формирование ими фибриллярных отростков; что на фибриллярных структурах эндотелиоцитов нейтрофилы

могут формировать NETs; что направленная миграция нейтрофилов по хемотаксическому градиенту, создаваемому бактериями, видоспецифична;

изучены новые механизмы миграции нейтрофилов вдоль эндотелия и через эндотелиальный монослой и возможные механизмы срыва миграционного процесса, что расширяет количество потенциальных мишеней концепции «контролируемого воспаления»;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс высокоразрешающих методов, ранее не применявшихся для исследования трансэндотелиальной миграции нейтрофилов и исследования особенностей межклеточных контактов: сканирующей ион-проводящей микроскопии, наноамперометрии в комплексе с известными методами оптической и флуоресцентной микроскопии, компьютерного анализа, иммуноцитохимии и культивирования и выделения клеток;

изложены факторы, влияющие на успешную реализацию миграции нейтрофилов или ее срыв;

раскрыты потенциальные мишени для модуляции миграции нейтрофилов;

изучены связи между изменениями морфо-механических свойств нейтрофилов и эндотелиоцитов и их функциональным состоянием.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

представлены новые знания о перспективах контроля над воспалительным процессом и новых механизмах миграции;

разработаны и внедрены новые высокоразрешающие методики исследования комплексных трехмерных многоклеточных структур;

созданы новые модели исследования клеточной миграции.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

использовано высокотехнологичное оборудование, апробированные экспериментальные методы и стандартные методы статистического анализа;

установлено соответствие результатов работы с данными других авторов, представленных в независимых источниках по исследуемой тематике, объем исследования позволяет достоверно обосновать выводы;

проведены серии экспериментов различными методами, что позволяет оценить воспроизводимость результатов исследований.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в проведении всех экспериментов, обработке полученных результатов, их обсуждении и анализе, активном участии в написании научных статей и апробации результатов диссертационного исследования на конференциях.

Диссертация является целостным, законченным научным исследованием, охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается четкой логикой и соответствующей содержанию работы структурой исследования, формулировками цели работы и выводов на основании полученных результатов. Диссертация соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания и заданы вопросы:

1. Связаны ли изменения модуля Юнга нейтрофила с продукцией активных форм кислорода нейтрофилом?
2. Что такое нейтрофильные привязи?
3. Какие можно выделить основные причины образования фибриллярных отростков эндотелиоцитами?
4. Каким методом проводилось одновременное картирование модуля Юнга поверхности нейтрофила и распределения актина внутри нейтрофила?

Соискатель Безруков Н.А. ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию, указав, что:

1. Да, данные изменения связаны, во-первых, по причине перестройки клеточной мембраны для сборки комплекса НАДФН-оксидазы, а, во-вторых, из-за изменения функционального состояния нейтрофила: клетка продуцировала активные формы кислорода в момент активной миграции по хемотаксическому градиенту, что сопровождалось перестройками цитоскелета.
2. Нейтрофильные привязи – это тонкие трубчатые вытягивания плазматической мембраны нейтрофилов, лишенные элементов цитоскелета, но богатые селектинами и интегринами, которые клетки используют преимущественно для адгезии и остановки на сосудистом эндотелии в условиях динамического сдвига в кровяном русле
3. Существует несколько потенциальных причин образования фибриллярных отростков эндотелием. Во-первых, это может быть способ снятия механического стресса с эндотелиальной клетки, претерпевающей морфоструктурные преобразования в процессе трансэндотелиальной миграции нейтрофилов через эндотелиальный слой. Во-вторых, фибриллярные отростки могут использоваться эндотелиальными клетками для перемещения и лучшей адгезии в процессе затягивания «зон входа», образованных нейтрофилами. В-третьих, фибриллярные отростки могут быть следствием альтерации эндотелиоцитов под влиянием, например, бактериальных факторов патогенности и/или ферментов и активных форм кислорода, выделяемых нейтрофилами для облегчения диапедеза.

4. Использовался совмещенный метод сканирующей ион-проводящей и конфокальной микроскопии: сканирование зондом проводилось параллельно с оптической визуализацией в одной и той же области. Для окрашивания актина в клетке использовался прижизненный краситель актина CellMask.

На заседании 18 июня 2026 года диссертационный совет принял решение за исследование морфо-механических и функциональных преобразований нейтрофилов при миграции по хемотаксическому градиенту в модели бактериемии методами высокоразрешающей микроскопии, что имеет важное значение для развития физиологии, присудить Безрукову Николаю Александровичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 10 докторов наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета; дополнительно введены на разовую защиту 0 человек; проголосовали: за 15, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель
диссертационного совета



 Воденев Владимир Анатольевич

Ученый секретарь
диссертационного совета

 Черкасова Елена Игоревна

18 июня 2026 года