

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук
Ермолинского Петра Борисовича
на тему: «Особенности микрореологии и сил взаимодействия
компонентов системы крови в норме и при сердечно-сосудистых
заболеваниях»
по специальности 1.3.21. Медицинская физика**

В условиях роста распространённости сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) особое значение приобретает изучение микрореологических характеристик крови, поскольку нарушения этих свойств тесно связаны с развитием сосудистых осложнений. В этом контексте диссертация Ермолинского Петра Борисовича представляет собой важное и своевременное исследование. В работе с помощью комплекса лазерно-оптических методик – лазерный пинцет, лазерная агрегометрия, эктацитометрия и другие – получены новые ценные данные, раскрывающие различные аспекты взаимодействия клеток крови в нормальных условиях и при ССЗ.

В данной работе автором проведён всесторонний анализ микрореологических свойств крови здоровых добровольцев и пациентов с различными ССЗ с использованием современных лазерно-оптических методов. Автор выполнил ряд экспериментов по изучению микрореологических свойств крови *in vitro* и *in vivo*, используя лазерный пинцет, лазерную агрегометрию, эктацитометрию и цифровую капилляроскопию.

Клинические данные выявили статистически значимую корреляционную связь между различными микрореологическими показателями у пациентов с различными ССЗ. В частности, показана статистически значимая положительная корреляция между

гидродинамической прочностью эритроцитарных агрегатов и индексом агрегации.

Особое внимание заслуживает измерение адгезионных сил между отдельными эритроцитами и монослоем эндотелия с помощью лазерного пинцета. Впервые было показано, что в физиологических условиях адгезия эритроцитов к эндотелию оказывается слабее процессов межэритроцитарной агрегации и дезагрегации. Важным фундаментальным открытием стало выявление эффекта насыщения адгезионных сил при концентрациях фибриногена, превышающих 4 мг/мл.

Практическую значимость представляют результаты о влиянии L-аргинина, субстрата для синтеза оксида азота (NO), на агрегационную активность эритроцитов. Автор продемонстрировал, что данный эффект обусловлен активацией эндотелиальной NO-синтазы, что расширяет возможности разработки новых подходов терапии пациентов с микрореологическими нарушениями при ССЗ.

Кроме того, Ермолинский Петр Борисович разработал прототип нового лазерного агрегометра, способного оценивать параметры гистерезиса агрегации эритроцитов, расширяя функциональные возможности диагностики.

Полученные результаты существенно углубляют понимание биофизических основ регуляции микроциркуляции и формируют научную базу для разработки новых методов диагностики и лечения микрореологических нарушений при ССЗ. Материалы диссертации отличаются высоким уровнем новизны, методологической точностью и обладают большим потенциалом для внедрения в клиническую практику.

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов и трёх приложений. Общий объём составляет 183 страницы, включающих 53 иллюстрации и 15 таблиц. Литература насчитывает 287 источников.

Во **введении** подробно обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи, а также изложены положения, предлагаемые к защите.

Глава 1. Обзор литературы представляет собой обзор современной литературы по микрореологии крови и биомеханике форменных элементов, включает рассмотрение строения и функции эритроцитов и тромбоцитов, их роль в обеспечении реологических свойств крови. Подробно анализируются механизмы агрегации и деформации эритроцитов, а также их изменения при различных патологиях, особенно при ССЗ. Отдельное внимание уделено клеточным взаимодействиям с эндотелием и их влиянию на кровоток. Также в главе приведен обзор современных оптических методов оценки агрегации и деформируемости клеток крови с анализом их преимуществ и ограничений.

Глава 2. Материалы и методы описывает материалы и методы исследования, включая подготовку образцов крови и эндотелиальных клеток (в работе были использованы эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVEC)), а также этические аспекты работы с биоматериалом. Подробно описаны используемые экспериментальные методы — лазерная агрегометрия, эктацитометрия, оптическая турбидиметрия, лазерный пинцет и цифровая капилляроскопия — и методы статистической обработки данных, включая корреляционный анализ.

Глава 3. Микрореология крови при социально-значимых заболеваниях посвящена изучению микрореологических характеристик крови у пациентов с ССЗ — артериальной гипертензией, ишемической болезнью сердца, фибрилляцией предсердий и сахарным диабетом 2-го типа. Приведены данные об изменениях индекса агрегации, времени агрегации, критического напряжения сдвига и индекса деформируемости. Проведён сравнительный анализ корреляций между параметрами *in vivo* и *in vitro*, выявлены особенности их взаимосвязей при различных ССЗ. Рассмотрены изменения капиллярного кровотока у пациентов с ишемией и фибрилляцией по сравнению со здоровыми людьми.

Глава 4. Влияние внешних и внутренних факторов, включая сосудистый эндотелий, на взаимодействия клеток крови посвящена экспериментальному исследованию факторов, влияющих на микрореологию крови — доноров оксида азота, а именно L-аргинина и нитропруссид натрия (НТН); фибриногена и температуры. Показано, что НТН изменяет прочность агрегатов и деформируемость эритроцитов. Установлена зависимость силы адгезии эритроцитов к эндотелию от концентрации фибриногена, с эффектом насыщения. Эксперименты с L-аргинином и ингибитором L-NAME продемонстрировали, что ослабление агрегации эритроцитов через NO обусловлено эндотелиальной NO-синтазой. Проанализировано влияние температуры на агрегационные свойства крови.

Глава 5. Создание портативного эритроцитарного агрегометра посвящена разработке и тестированию портативного лазерного агрегометра «ПЛАК 1» для измерения параметров эритроцитарной агрегации. Представлены технические характеристики устройства, его преимущества — возможность оценки спонтанной агрегации и гистерезиса, низкая стоимость, компактность и простота использования. Выполнен обзор существующих агрегометров, проведено моделирование влияния вибраций на сдвиговые потоки, описаны схемы, конструкция, программное обеспечение и протоколы измерений. В экспериментальной части рассмотрены эффекты гематокрита, толщины кюветы и гистерезиса. Отмечена высокая адаптируемость прибора для решения новых задач.

Изложенные в главе 3 и 4 результаты, несомненно, демонстрируют обоснованность положений, выносимых автором на защиту, корректность сформулированных в диссертации научных выводов и их новизну.

Работа Ермолинского П.Б. представляет собой завершённое исследование, отражающее комплексность и объём выполненных задач. Результаты исследования были представлены на ряде российских и

международных конференций. Результаты опубликованы в двух десятках статей в ведущих международных журналах с высоким рейтингом.

Достоверность полученных данных подтверждается сравнением с данными других авторов, большим числом апробаций результатов на международных конференциях и в статьях научных журналах, а также значительном массиве данных и статистическим анализом.

Поставленные в диссертации задачи успешно решены, и предмет исследования, использованные методы и полученные выводы полностью соответствуют специальности 1.3.21 — «Медицинская физика» (физико-математические науки).

Замечания к диссертационной работе. К диссертационной работе Ермолинского Петра Борисовича, у меня отсутствуют критические замечания, которые поставили бы под сомнения полученные результаты и выводы. Однако есть ряд несущественных замечаний и вопросов.

1. В пункте «2.2.5 Цифровая капилляроскопия» в протоколе исследования явно не указано общее время записи видеофрагментов капиллярного кровотока для одного пациента/здорового донора.
2. На 56 стр. в конце автор приводит ряд ссылок касательно влияния пассажа на морфологию и функцию эндотелиальных клеток. Хотя в большинстве экспериментов использовались клетки 1-го пассажа, в пункте «4.4 Гидродинамическая прочность эритроцитарных агрегатов в микрофлюидном канале, выстланном эндотелиальными клетками» использовались клетки 2–6 пассажа. Как могло повлиять число пассажей на измеряемые агрегационные параметры эритроцитов?
3. В представленной работе, несмотря на подробное рассмотрение лазерного пинцета в обзоре литературы и методическом разделе, не выделен отдельный параграф, в котором проводилось бы сопоставление этого метода с другими существующими технологиями измерения сил между одиночными клетками. Хотя

автор упоминает сопоставление лазерного пинцета, метода аспирации микропипеткой и атомно-силовой микроскопии (АСМ) в пункте 4.2.2 при обсуждении результатов, отдельный параграф позволил бы четко систематизировать их преимущества и ограничения. Однако отдельный раздел мог бы явным образом обозначить преимущества и недостатки метода лазерного пинцета. В частности, автор мог бы рассмотреть следующую статью, в которой использовался АСМ, метод аспирации микропипеткой и численное моделирование: Lopes, C.S., Curty, J., Carvalho, F.A. et al. A mathematical model of fibrinogen-mediated erythrocyte-erythrocyte adhesion. *Commun Biol* 6, 192 (2023). <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04560-4>.

4. В пункте 2.1.1 *Подготовка образцов крови* автор обсуждает влияние времени, прошедшего после взятия крови, на агрегацию и деформацию эритроцитов. Однако не указано, как именно меняются эти характеристики (усиление/ослабление) и какова степень их изменения.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.3.21. Медицинская физика (по физико-математическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Она оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Автореферат верно отражает содержание диссертации.

На мой взгляд соискатель Ермолинский Петр Борисович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.21. Медицинская физика.

Официальный оппонент:

Доктор физико-математических наук, профессор, кафедра физики полимеров и кристаллов, физический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова.

Яминский Игорь Владимирович

подпись

 2025 г.

Контактные данные:

Тел.: +7-910-510-46-43, e-mail: i.yaminsky@gmail.com
Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:
02.00.06 – «Высокомолекулярные соединения»

Адрес места работы:

119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40,
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
физический факультет, кафедра физики полимеров и кристаллов.
Тел.: +7-910-510-46-43, e-mail: i.yaminsky@gmail.com

Подпись сотрудника Яминского Игоря Владимировича удостоверяю:

доктор физико-математических наук, ученый секретарь Ученого совета
физического факультета федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования «Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова», профессор
Стремоухов Сергей Юрьевич.