

ОТЗЫВ

официального оппонента Стародубцевой Наталии Леонидовны на
диссертационную работу Гончарова Игоря Николаевича «Модификации протеома
крови при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов и
наземного моделирования их эффектов», представленную на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.7 – Авиационная,
космическая и морская медицина

Актуальность темы

Диссертация Гончарова Игоря Николаевича посвящена исследованию модификаций протеома крови при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов и наземного моделирования их эффектов». Интерес к этой теме возник, начиная с 70-х годов XX века, развитие поучил в трудах известного специалиста по гравитационной физиологии и авиакосмической медицины А.Р. Котовской и соавторов. Отметим высокую частоту распространённости микроангиопатий в виде петехиальных кровоизлияний в мягкие ткани у космонавтов после приземления. Генез этих микроангиопатий не уточнен. В доступной литературе нет данных об особенностях протеома крови на фоне микро- и макрососудистых изменений после завершения длительных КП, что оставляет открытым вопрос об их молекулярной этиологии. Модификации белкового состава крови являются отражением молекулярных механизмов реакции организма на комплекс экстремальных факторов (как во время КП, так и при воздействии гравитационных перегрузок этапа приземления). В этом качестве характеристика изменений протеома жидкостей тела в перспективе может стать основой таргетных диагностических и лечебно-профилактических мероприятий. Исследование особенностей протеома крови у практически здоровых испытуемых – участников эксперимента «21-суточная сухая иммерсия» с петехиальными кровоизлияниями в мягкие ткани после проведения ортопробы также актуально для понимания молекулярных механизмов адаптации сосудистой системы к условиям микрогравитации до приземления.

Работа выполнена на материалах реальных космических полетов и наземного эксперимента методами жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Полуколичественный протеомный анализ образцов плазмы крови 13 российских

космонавтов с вторичной геморрагической пурпурой осуществлялся методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ-МС/МС). Количественный анализ образцов плазмы крови 18 космонавтов проведен с помощью хромато-масс-спектрометрии с мониторингом множественных реакций (ЖХ/МРМ-МС) с применением целевой пептидной панели стандартов, включающей основные мажорные белки плазмы/сыворотки крови, ранее предложенные для диагностики сердечно-сосудистых, метаболических и онкологических заболеваний. Использование этих методов методологически оправданно, отвечает стандартам омиксных технологий. Оценка состояния здоровья человека с использованием молекулярных технологий является перспективным направлением здравоохранения, и несомненную актуальность имеют работы по анализу модификаций протеома при воздействии комплекса факторов длительного космического полета и «сухой иммерсии». Все это в комплексе имеет существенное фундаментальное значение для понимания особенностей протеомной регуляции биологических процессов в этих условиях. Прикладной результат работы Гончарова И.Н. состоит в том, что результаты диссертационного исследования могут использоваться для оптимизации диагностики и мониторинга здоровья человека с приобретенными сосудистыми пурпурами после заключительного этапа длительного КП и модельных исследований, а в перспективе создания диагностической панели белков. Учитывая вышеизложенное, актуальность диссертационной работы Гончарова И.Н. очевидна.

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

Полученные в работе выводы базируются на результатах обработки хромато-масс-спектров образцов плазмы крови до и после воздействия на организм человека экстремальных факторов. Описание методики анализа полученных данных дается в основном тексте диссертации и в автореферате в общем виде, в основном, в части методики анализа масс-спектрометрических данных для идентификации белков с использованием программного пакета MaxQuant. Для решения задач диссертационной работы проведено исследование особенностей протеома плазмы крови космонавтов, совершивших продолжительный полет и испытателей-участников эксперимента «21-суточная сухая иммерсия». Описание результатов

исследования и их обсуждение приведено в диссертации подробно, иллюстрировано рисунками и таблицами, конкретизирующими текст. Выводы соответствуют целям и задачам диссертационной работы, сформулированы корректно.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность результатов, изложенных в диссертации Гончарова Игоря Николаевича подтверждается обоснованным выбором объектов исследования (участники длительных космических полетов и наземного эксперимента «сухая иммерсия 21-сутки»), применением современных методов исследования (ВЭЖХ-МС/МС и ЖХ/МРМ-МС), использованием адекватных методов статистической обработки результатов исследования и биоинформационных методов анализа данных, согласованностью с известными литературными данными и теориями.

Представленная к защите работа продолжает цикл научных работ, выполненных на базе ФГБУН ГНЦ РФ Института медико-биологических проблем Российской академии наук. В частности, под руководством проф. Лариной И.М. в предыдущие годы были успешно защищены близкие по направлению работы, а именно диссертационная работа Трифоновой О.П. «Оценка пластичности протеома плазмы крови здорового человека в экстремальных условиях жизнедеятельности», Пахаруковой Н.А. «Характеристика протеомного профиля сыворотки крови здорового человека при воздействии факторов космического полета», Кашириной Д.Н. «Профиль эндотелий-ассоциированных белков после космических полетов и при моделировании его факторов», Бржозовского Александра Геннадьевича «Количественное определение изменений белкового состава плазмы крови и мочи космонавтов после длительных космических полетов и в модельных экспериментах» и другие. В этом контексте особую важность приобретает новизна представленной к защите работе Гончарова Игоря Николаевича в сравнении с работами коллег из лаборатории протеомики ГНЦ РФ ИМБП РАН. В представленной к защите работе впервые описан протеомный профиль плазмы крови и биоинформационными методами проанализированы результаты протеомного ответа, сопровождающего развитие микроангиопатий у космонавтов после завершения длительного КП и практически здоровых испытуемых-добровольцев с наружными проявлениями

микроангиопатий после завершения модельных наземных исследований в 21-суточной иммерсии. На основании сравнительного анализа регуляторов состояния микрососудистого звена после длительных КП и модельного исследования 21-суточной иммерсии выделены общие биологические процессы, отмечены белки-протекторы и белки – кандидаты в биомаркеры, рисков развития сосудистых изменений. Впервые исследован вклад белков, участвующих в биологических процессах ангиогенеза в условиях КП и 21-суточной СИ.

Таким образом, научная новизна диссертационной работы Гончарова И.Н. заключается в получении результатов исследования модификаций протеома крови при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов и наземного моделирования их эффектов как «аналитического изучения механизмов адаптации организма к измененным условиям среды обитания и его функциональных резервов, процессов формирования и поддержания гомеостаза в области космической биологии ...экстремальной, авиационной, высокогорной, баро- и водолазной медицины...», что соответствует п. 9 паспорта специальности 3.3.7 Авиационная, космическая и морская медицина.

Рекомендации по использованию результатов диссертации

Уточнение выраженности и направленности биологических процессов при выявлении сосудистых пурпур имеют важное значение для прогноза состояния здоровья. Особенности физиологических механизмов формирования адаптивных реакций системы гемостаза и оценка её функциональных резервов при воздействии комплекса факторов длительного космического полёта и приземления имеют большое научное и практическое значение для авиакосмической и экстремальной медицины, перспективных программ освоения дальнего космоса, а также способствуют совершенствованию медицинского сопровождения космического туризма. Полученные данные могут быть использованы для повышения эффективности клинико-функционального обследования в раннем послеполетном периоде у лиц с локальными петехиальными кровоизлияниями мягких тканей с целью минимизации рисков сосудистых нарушений. Результаты диссертационного исследования формируют основу для оптимизации предложений по диагностике и

мониторингу здоровья человека с приобретенными сосудистыми пурпурами при перегрузках заключительного этапа длительного КП и модельных исследований.

Соответствие диссертации критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней

Диссертация Гончарова И.Н. является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение цели «Исследование модификаций протеома крови космонавтов при микроангиопатиях, возникающих в ответ на гравитационные перегрузки, воздействующие вслед за периодом адаптации сосудистой системы к микрогравитации, а также в условиях наземного моделирования эффектов космического полёта (21-суточная «сухая» иммерсия)» и задач научного исследования.

Текст написан научно-публицистическим стилем, изложен логично: решение поставленных задач, определяет положения, выносимые на защиту, и выводы.

Краткая характеристика основного содержания диссертации. Диссертация Гончарова Игоря Николаевича изложена на 151 странице машинописного текста, содержит «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследования и их обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации», «Список литературы». Диссертационная работа проиллюстрирована 11 таблицами, 9 рисунками, 3 схемами. Библиографический указатель включает цитирование 207 научных работ (из них 44 отечественных и 163 зарубежных источников). Во введении автор кратко обосновывает актуальность темы исследования, результаты предшествующих работ в области исследования молекулярных основ адаптационных механизмов, формирует цель и задачи работы, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методологию и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и сведения об апробации результатов исследования.

Обзор литературы состоит из четырех разделов, в которых описаны особенности механизмов сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в норме и под воздействием факторов космического полета, механизмы развития ортостатической пурпуры и обосновано применение протеомных методов в космической биологии и медицине и заключения.

Материалы и методы исследования представлены описанием объектов и методов исследования, в том числе, сбора и пробоподготовки образцов, хромато-масс-спектрометрического анализа, статистического и биоинформационного анализа результатов исследования.

Описание результатов исследования и их обсуждения включает четыре раздела, соответствующих числу поставленных задач. В первом описываются полученные результаты анализа изменений протеома крови при микроангиопатиях после завершения продолжительных космических полетов. Второй раздел логично раскрывает связь некоторых достоверно изменяющихся белков с процессами ангиогенеза как части процессов репарации при наличии геморрагий после завершения космических полетов. Третий раздел содержит результаты и обсуждение исследования особенностей протеома при микроангиопатиях после 21-суточной сухой иммерсии. Модель выбрана абсолютно адекватно задачам исследования. Ортопроба в рамках влияния сухой иммерсии является мягким аналогом гравитационного воздействия. Сравнительный анализ изменений протеома плазмы крови, зарегистрированных в ходе наземных экспериментов и после продолжительных космических полетов проведен, показал сходные модификации протеомной композиции. Это подтверждает общие механизмы возникновения геморрагий после возвращения в гравитационную среду уже адаптированного к микрогравитации космонавта или испытателя.

Завершает работу раздел «Выводы», после которого приводятся Практические рекомендации. Отмечу рациональность изложения практических рекомендаций, применительно к использованию как фундаментальных, так и прикладных результатов диссертации. Далее автор выражает благодарность. В работе имеется список рисунков, схем, таблиц, список сокращений и список использованной литературы.

В целом текст диссертации написан хорошим языком, изложенный материал структурирован. Работа свидетельствует о личном вкладе Гончарова И.Н. в науку.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом

Диссертационная работа Гончарова Игоря Николаевича «Модификации протеома крови при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов и наземного моделирования их эффектов» представляет собой серьезное научное исследование, выполненное на высоком методическом уровне. Несомненным достоинством работы является ее практическая ориентированность - исследование проведено на материалах реальных космических полетов и сопутствующих наземных модельных экспериментов, что определяет его значимость для обеспечения безопасности космонавтов и разработки профилактических мер. Особого внимания заслуживает личное участие автора в планировании и проведении экспериментов, включая масс-спектрометрический анализ и обработку полученных данных. Актуальность исследования подтверждается публикациями автора в рецензируемых научных журналах, в том числе включенных в перечень ВАК, а также его выступлениями с докладами на российских и международных научных форумах. Основные результаты исследования изложены в 10 печатных работах, включая 4 статьи в рецензируемых журналах, и были представлены на 16 конференциях различного уровня.

При знакомстве с работой возникли следующие вопросы и комментарии.

1. Исследование проводилось на относительно небольшой выборке (31 космонавт и 10 добровольцев), что может ограничивать статистическую значимость отдельных выводов. Кроме того, в работе не в полной мере учтены индивидуальные различия в адаптации космонавтов к перегрузкам.
2. Было бы целесообразно дополнить исследование сравнительным анализом протеомных профилей космонавтов и пилотов, испытывающих кратковременные перегрузки, хотя бы на качественном уровне.
3. Хотя в работе выявлены статистически достоверные изменения уровней белков, механизмы их влияния на развитие микроангиопатий описаны достаточно обобщенно, что указывает на необходимость дальнейших исследований для установления четких причинно-следственных связей.
4. Отмечаются некоторые терминологические неточности: одни и те же клинические проявления в тексте описываются разными терминами (микроангиопатии, петехиальные кровоизлияния, ортостатическая пурпура).

5. Также обращает на себя внимание различие в символических обозначениях белков в тексте, таблицах и рисунках, что, впрочем, может быть обусловлено использованием разных биоинформационных программ.

6. Для повышения информативности работы было бы полезно более четко указывать методы протеомного анализа (полуколичественный ВЭЖХ-МС/МС или количественный ВЭЖХ-МРМ-МС), использованные для получения конкретных результатов.

7. Практическую ценность исследования мог бы повысить раздел с предварительной панелью потенциальных биомаркеров, включающий данные об их концентрациях в норме и при воздействии экстремальных факторов.

8. Перспективным направлением дальнейших исследований могло бы стать проведение функциональных исследований (*in vitro/in vivo*) для уточнения роли выявленных белков.

Общее заключение

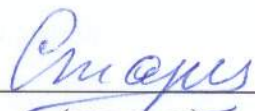
Диссертационная работа Гончарова Игоря Николаевича «Модификации протеома крови при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов и наземного моделирования их эффектов», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.7 – Авиационная, космическая и морская медицина является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне, в которой решены важные научно-практические задачи по исследованию изменений протеома плазмы крови, сопровождающую микро-сосудистую травму после заключительного этапа длительных космических полётов и у лиц с микроангиопатиями после завершения наземного модельного исследования 21-суточной «сухой» иммерсии. Полученные результаты вносят существенный вклад в развитие космической медицины и могут служить основой для разработки новых диагностических и профилактических подходов. Автор демонстрирует глубокое понимание проблемы, владение современными методами протеомного анализа и биоинформатики. Большой объем исследований и надежность примененных методов обеспечивают достоверность и значимость полученных результатов. Выводы диссертации являются обоснованными.

Автореферат и опубликованные работы достаточно полно отражают основное содержание диссертации, характеризуют результаты проведенных исследований.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов, представленная работа соответствует требованиям, изложенным в пунктах 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями и дополнениями от 30 июля 2014 г, 21 апреля, 2 августа 2016 г, 29 мая, 28 августа 2017 г, 1 октября 2018 г, 20 марта, 11 сентября 2021 г, 26 сентября 2022 г, 26 января, 18 марта. 26 октября 2023г, 25 января 2024 г.) предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук и не содержит заимствованного материала без ссылок на авторов, а ее автор достоин присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.7 – Авиационная, космическая и морская медицина.

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук, доцент,
заведующая лабораторией клинической протеомики
ФГБУ "НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова"
Минздрава России
Стародубцева Наталия Леонидовна


(подпись)

Контактный телефон: +79164639867

e-mail: n_starodubtseva@oparina4.ru

Адрес: 117485, г. Москва, ул. Академика Волгина, д.15. корп.3, кв. 369

Телефон: +7 495 531-44-44 (доб. 3113).

сайт: <https://ncagp.ru/>

Подпись Стародубцевой Наталии Леонидовны заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ "НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова"
Минздрава России
кандидат медицинских наук, доцент
Павлович С.В.



(подпись)

«28» мая 2025 г.