

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук (ИБХФ РАН),
доктор химических наук, профессор
Курочкин И.Н.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук на диссертацию 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 диссертационного исследования

Диссертационная работа Гончарова И.Н. посвящена решению актуальной задачи исследования модификаций протеома крови космонавтов при микроангиопатиях, возникающих в ответ на гравитационные перегрузки, воздействующие вслед за периодом адаптации сосудистой системы организма космонавта к микрогравитации, а также анализу изменений белковой композиции крови здоровых добровольцев в условиях наземного моделирования эффектов космического полёта (в испытаниях с 21-суточной «сухой» иммерсией).

Применение омикс-технологий на основе масс-спектрометрии играет особую роль в изучении спектра белков крови здорового человека и динамики протеомной композиции под действием факторов длительного космического полета (КП). Особый интерес вызывает исследование модификации протеома у космонавтов с

ИМБП ВХ. № 08/1867
от 04.06.2025 г. 1

микроангиопатиями после приземления. Модификации протеома крови являются отражением молекулярных механизмов реакции организма на комплекс экстремальных факторов (как во время КП, так и при воздействии гравитационных перегрузок на этапе приземления после завершения космической миссии). Учитывая, что в доступной литературе не было данных об особенностях протеомной композиции крови на фоне микро- и макрососудистых изменений после завершения длительных КП, вопрос об их молекулярной этиологии оставался открытым. Поэтому исследование белковых модификаций плазмы крови применительно к регуляции процессов, доминирующих в генезе микроангиопатий у космонавтов при приземлении после длительных КП и добровольцев в эксперименте в условиях 21-суточной сухой иммерсии (СИ) – известной наземной модели некоторых факторов КП – является актуальным.

В диссертационной работе Гончаровым И.Н. проанализированы результаты исследования биологических образцов 31 космонавта, у 24 из которых были выявлены петехиальные кровоизлияния в мягкие ткани (вторичная геморрагическая пурпура) в первые сутки после приземления на завершающем этапе полугодовых космических полетов. Также исследовались образцы плазмы крови 10 практически здоровых испытуемых-добровольцев, находившиеся в условиях 21-суточной СИ, у которых наблюдались петехиальные кровоизлияния после проведения стандартной ортопробы по завершении эксперимента. Автор обращает внимание на очень высокую распространенность этих микроангиопатий: 77% у космонавтов и 100% у участников эксперимента в условиях 21-суточной СИ, на фоне ортостатического воздействия. Выявление модификаций протеома в этих группах может быть использовано для углубления понимания особенностей физиологических механизмов формирования адаптивных реакций системы гемостаза и оценки её функциональных резервов при воздействии комплекса факторов длительного космического полёта и приземления, а также практического использования в авиакосмической и экстремальной медицине.

Таким образом, актуальность темы диссертации не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

Обоснованность научных положений и выводов определяется достаточным объемом проведенных исследований, использованием комплекса современных

методов протеомики на основе масс-спектрометрии, применением методологически обоснованного набора методов статистической обработки и биоинформационного анализа данных. Выносимые на защиту положения и выводы основаны на достоверных результатах исследований, проиллюстрированных графиками и таблицами.

В диссертационной работе Гончаровым И.Н. проанализированы результаты исследования крови у 31 космонавта, у 24 из которых были обнаружены петехиальные кровоизлияния в мягкие ткани (вторичная геморрагическая пурпура) в первые сутки после приземления после полугодовых космических полетов. В ходе работы автором проведен полуколичественный протеомный анализ образцов плазмы крови 13 российских космонавтов с вторичной геморрагической пурпурой. Количественный анализ образцов плазмы крови 12 космонавтов с вторичной геморрагической пурпурой и 6 – без проявлений пурпуры также был выполнен с помощью хромато-масс-спектрометрии с мониторингом множественных реакций (ЖХ/МРМ-МС) с применением целевой пептидной панели стандартов, включающей белки, функционирующие во внеклеточной жидкости и включенные в панель для диагностики основных метаболических заболеваний человека (Kuzuk et al., 2013). Аналогично исследовались образцы плазмы крови 10 практически – здоровых испытуемых-добровольцев, находившиеся в условиях 21-суточной иммерсии, у которых наблюдались петехиальные кровоизлияния после проведения ортопробы по завершении эксперимента. Все исследования проводились в соответствии с существующими этическими принципами, заложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

В ходе выполнения диссертационной работы Гончаровым И.Н. применялись стандартные подходы к сравнению достоверно изменяющихся уровней белков в группе космонавтов с выявленными микрососудистыми изменениями, сравнение между группами с и без петехиальных кровоизлияний, исследование достоверно изменяющихся по уровню белков в условиях сухой иммерсии и сравнение списков белков, достоверно изменившихся у космонавтов и у испытуемых. Также проведена оценка особенностей протеомной композиции крови для выявления биологических процессов, участвующих в регуляции ангиогенеза у космонавтов и у испытуемых. Анализ диссертационной работы в отношении организации

проведения экспериментальных и теоретических исследований, корректности обработки результатов, представленности результатов исследования, в том числе иллюстрации таблицами и рисунками - свидетельствует о достоверности и обоснованности основных научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации. Представленная диссертационная работа Гончарова Игоря Николаевича «Модификации протеома крови при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов и наземного моделирования их эффектов», соответствует пункту 3.9 паспорта специальности 3.3.7 – Авиационная, космическая и морская медицина.

Достоверность, новизна и теоретическая значимость научных положений исследования, полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Достоверность полученных результатов научного исследования подтверждает достаточный объем выполненных исследований (число образцов крови, собранных на протяжении космического полета и модельного эксперимента на Земле, масс-спектрометрические исследования, в двух повторностях), применение высокоинформативных методов статистического анализа данных. Так, для проверки значимости различий между групповыми средними параметрами в разных группах с помощью сравнения внутригрупповой и межгрупповой дисперсий этих групп применялся дисперсионный анализ (ANOVA – Analysis of Variation). Сравнение связанных выборок в тестах было выполнено с помощью непараметрического парного теста Вилкоксона при $p < 0,05$. Информация о свойствах и молекулярной массе белков была получена с помощью базы данных Uniprot. Аналитическая платформа и программа ANDSystem применялись для конструирования ассоциативных сетей молекулярных взаимодействий групп белков, непосредственно связанных с травмой сосуда. Программа STRING использовалась для получения информации о путях и посредниках биологических процессов, в которых участвуют достоверно изменяющиеся белки. Таким образом подтверждена достоверность результатов диссертационного исследования Гончарова И.Н.

Полученные автором научные результаты продолжают серию работ по исследованию протеомного профиля сыворотки крови здорового человека при

воздействии факторов космического полета и наземных модельных исследований под руководством проф. Лариной И.М. на базе ФГБУН ГНЦ РФ Института медико-биологических проблем РАН. Научная новизна диссертационного исследования определяется тем, что Гончаровым И.Н. впервые биоинформационными методами:

- проанализированы результаты протеомного ответа, сопровождающего развитие микроангиопатий у космонавтов после завершения длительного КП;
- описан протеомный профиль крови практически здоровых испытуемых-добровольцев с наружными проявлениями микроангиопатий после завершения модельных наземных исследований в «сухой» иммерсии как модели модификаций протеома крови космонавтов в условиях КП;
- выделены общие биологические процессы, отмечены белки-протекторы и белки – кандидаты в биомаркеры рисков развития сосудистых изменений после длительных КП и СИ;
- исследован вклад белков, участвующих в биологических процессах ангиогенеза в условиях КП и 21-суточной СИ.

Теоретическая значимость диссертационной работы Гончарова И.Н. состоит в анализе, на молекулярном уровне, особенностей формирования адаптивных реакций системы гемостаза при воздействии комплекса факторов длительного космического полёта и приземления, формирует основу для разработки предложений по диагностике и мониторингу здоровья человека с приобретенными сосудистыми пурпурами при перегрузках заключительного этапа длительного КП и модельных исследований.

Полнота изложения результатов диссертации в научной печати

Основные результаты диссертационного исследования Гончарова И.Н. изложены в 10 печатных работах, из них 4 статьи опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и 8 тезисов докладов. Результаты диссертационного исследования докладывались Гончаровым И.Н. на 16 всероссийских и международных конгрессах и научно-практических конференциях.

Оценка содержания и оформления работы, ее завершенность в целом

Диссертационная работа изложена в традиционном стиле, состоит из глав - «Введения», «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). Объем диссертации составляет 151 страницу машинописного текста.

Во **введении** Гончаров И.Н. освещает актуальность темы диссертационного исследования, формулирует цель и задачи исследования, излагает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, формулирует основные положения, выносимые на защиту.

В **первой главе** содержится подробный информационно-аналитический обзор литературы по проблеме микроангиопатий, часто наблюдаемых после завершения длительных космических полетов. Приводятся основные понятия, отмечено, что структурные изменения, возникающие под влиянием экстремальных факторов в различных органах, характеризуются как реактивные и занимают пограничное положение между нормой и патологией. Рассматриваются некоторые изученные в клинических условиях механизмы гемостаза при травме сосуда и механизм развития ортостатической пурпуры. Отдельное внимание уделено воздействию факторов космического полета на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз и особенностям ангиогенеза. Обсуждается важность сухой иммерсии как наземной модели, наиболее точно моделирующей ранние эффекты воздействия микрогравитации на организм здорового человека и информативность, в этой связи, стандартной ортостатической пробы, мягко моделирующей возвращение в гравитационную среду после завершения модельного эксперимента (и космических полетов).

Во **второй главе** описана организация исследования, характеристика групп участников исследования, методы исследования, включая характеристики выполнения хромато-масс-спектрометрии и особенности протеомного анализа образцов плазмы. Указаны статистические методы и биоинформационные

программы, соответствующие объему данных и необходимые для решения научных задач диссертационной работы.

Третья глава содержит результаты исследования и их обсуждение в соответствии с положениями, выносимыми на защиту. Приведены результаты исследования модификации протеома при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов, обсуждена связь белков с достоверно изменяющимся уровнем с биологическими процессами «травма» «повреждение сосудов» и «защита от повреждения». Продолжая проверку гипотезы о включении определенных белков протеома крови в механизмы развития вторичной геморрагической пурпуры, был проведен сравнительный анализ результатов обследования группы космонавтов с и без проявлений геморрагической пурпуры в первые сутки после приземления. Для подтверждения достоверности связи геморагий с тем же списком белков анализ проводился количественным методом. Представлены результаты участия некоторых белков с биологическими процессами ангиогенеза после завершения продолжительных космических полетов. Полученные результаты имеют большое значение, в связи с тем, что с одной стороны, ангиогенез является важной частью процессов репарации после травмы, с другой стороны - имеются данные о влиянии гравитационной разгрузки на ангиогенез.

Автором освещены особенности протеома крови при впервые наблюдаемых микроангиопатиях после ортопробы под влиянием условий предшествующей 21-суточной сухой иммерсии и описаны связи некоторых белков крови с процессами ангиогенеза.

Списки достоверно отличающихся белков крови, выявляемые после завершения космического полета и сухой иммерсии при наличии микроангиопатий показывают однотипную протеомную композицию, а ассоциативные сети белок-белковых взаимодействий объединяют биологические процессы воздействия гравитации на организм, адаптированный к условиям реальной или моделируемой микрогравитации.

В **Заключении** автором обобщаются полученные результаты и отмечается, что полученные данные являются началом нового направления исследований

протеома крови в ответ на микрососудистую травму при перегрузках на спуске после завершения продолжительных космических полетов.

На основании полученных результатов Гончаровым И.Н. сформулировано 6 выводов, соответствующих цели и задачам исследования.

Автореферат в полной мере отражает содержание диссертационной работы.

Рекомендации по использованию результатов исследования

Результаты диссертационной работы могут быть использованы для повышения эффективности клинико-функционального обследования космонавтов в раннем послеполетном периоде, особенно у лиц с локальными петехиальными кровоизлияниями мягких тканей с целью минимизации рисков сосудистых нарушений; прогноза состояния здоровья. Они создают основу для формирования предложений по диагностике и мониторингу состояния здоровья участников космических полетов с приобретенными сосудистыми пурпурами при перегрузках заключительного этапа длительного полета и добровольцев в модельных исследованиях. Адресное воздействие для купирования (ослабления) этих негативных влияний комплекса экстремальных факторов на сосудистую систему должно учитывать время приложения этого воздействия: продолжительный космический полет или период реабилитации после приземления. Полученные данные являются началом нового направления исследований, позволяющего определить поиск перспективных методов профилактики и, возможно, лечения геморрагий, а также обосновать новые подходы и методы к отбору космонавтов.

В процессе анализа материалов диссертационного исследования к Гончарову И.Н. возникли следующие **вопросы**:

- 1) На основании полученных данных можем ли мы предсказать вероятность развития микрососудистой травмы после завершения длительных космических полетов?
- 2) Какие фармакологические препараты, по мнению автора, могли бы таргетно купировать выявленные модификации протеома у лиц с вторичной геморрагической пурпурой после завершения длительных КП и сухой иммерсии?

Вопросы направлены на более полное раскрытие практического применения материалов диссертационного исследования Гончарова И.Н. и носят дискуссионный характер в рамках обсуждения работы.

Заключение

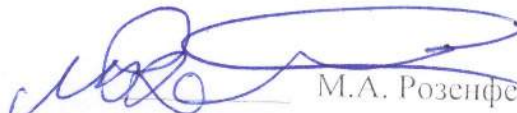
Диссертационная работа Гончарова Игоря Николаевича «Модификации протеома крови при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов и наземного моделирования их эффектов», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.7 – Авиационная, космическая и морская медицина, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решены важные научно-практические задачи исследования модификации протеома крови, сопровождающие микро-сосудистую травму после заключительного этапа длительных космических полётов и после завершения наземного модельного эксперимента - 21-суточной «сухой» иммерсии.

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.

Диссертационная работа Гончарова Игоря Николаевича «Модификации протеома крови при микроангиопатиях после продолжительных космических полетов и наземного моделирования их эффектов») была обсуждена, отзыв заслушан и одобрен на семинаре лаборатории Термодинамики биосистем ИБХФ РАН (28 мая 2025 г., протокол №1).

Отзыв о диссертационной работе Гончарова И. И. подготовлен заведующим лабораторией Термодинамики биосистем ИБХФ РАН Розенфельдом Марком Александровичем.

Профессор, заведующий лабораторией Термодинамики биосистем Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук
доктор биологических наук


М.А. Розенфельд
«02» июня 2025

e-mail: markrosenfeld@rambler.ru

телефон: +7 (910) 443 82 00

Подпись доктора биологических наук Розенфельда М.А. удостоверяю.
Ученый секретарь Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук, кандидат биологических наук


«02» июня 2025
 Скалацкая

Сведения о ведущей организации:

Полное наименование: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

Сокращенное наименование: ИБХФ РАН

Адрес организации: 119334, Россия, Москва, улица Косыгина, 4

Телефон: +7 499 135-78-94, +7 499 137-64-20, +7 499 137-41-01

Сайт: biochemphysics.ru