

ОТЗЫВ

официального оппонента Чеботаревой Натальи Викторовны
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 практически не изученному вопросу авиационной и космической медицины – изучению модификаций протеомной композиции плазмы крови, которые наблюдаются у космонавтов при микроангиопатиях после завершения продолжительных полетов, а также в ходе наземного моделирования эффектов невесомости в сухой иммерсии. Представляется также актуальным исследование связи достоверно изменяющихся белков с активностью биологических процессов ангиогенеза как компонента совокупности процессов восстановления после травмы. Исследования протеома крови при вторичной геморрагической пурпуре, развивающейся у космонавтов под влиянием перегрузок этапа приземления и возвращения к условиям гравитации, являются чрезвычайно актуальной проблемой фундаментального характера, в плане расширения представлений о молекулярных механизмах возникновения вторичной геморрагической и ортостатической пурпуры, так и в прикладном аспекте - поиска способов профилактики и коррекции этих изменений.

Исследование особенностей протеомной композиции у практически здоровых испытуемых – участников эксперимента «21-суточная сухая иммерсия» с петехиальными кровоизлияниями в мягкие ткани после проведения ортопробы рассматривается автором как модель воздействия на организм человека определенных факторов космического полета, что актуально для понимания молекулярных механизмов адаптации сосудистой системы к условиям микрогравитации и быстрого эффекта гравитационно - направленного перераспределения крови при ортостатическом воздействии (при ортопробе).

Работа выполнена на материалах реальных космических полетов и наземного эксперимента высокоточными методами жидкостной хромато-массспектрометрии. Таким образом, актуальность диссертационной работы Гончарова И.Н. безусловно подтверждается.

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

Полученные в работе выводы базируются на результатах статистического и биоинформационного анализа данных хромато-массспектров образцов плазмы крови. Описание методик анализа дается в основном тексте диссертации и в автореферате в общем виде, что соответствует общепризнанным стандартам. Для решения задач диссертационной работы проведено исследование протеома плазмы крови 31 космонавта, совершивших продолжительный полет (полугодовой, на Российском сегменте МКС) и 10 испытуемых – участников эксперимента с 21-суточной сухой иммерсией. Все участники исследований были признаны практически здоровыми специальной врачебно-экспертной комиссией. Описание результатов исследования и их обсуждение приведено в диссертации подробно, иллюстрировано рисунками и таблицами, соответствующими тексту. Выводы согласовываются с целями и задачами диссертационной работы.

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), применением современных методов исследования (жидкостная хромато-массспектрометрия), использованием адекватных методов статистической обработки результатов исследования и применением биоинформационных методов анализа данных.

В представленной к защите работе впервые описан протеомный профиль крови, сопровождающий развитие микроангиопатий у космонавтов после завершения длительного КП и у практически здоровых испытуемых-добровольцев после завершения модельного наземного исследования в 21-

суточной иммерсии, когда при выполнении ими стандартной ортопробы были отмечены наружные проявления микроангиопатий. Впервые 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.

Научная новизна диссертационной работы Гончарова И.Н. заключается в получении результатов исследовании модификаций протеома крови, сопутствующих микроангиопатиям 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

Полученные данные могут быть использованы для повышения эффективности клинико-функционального обследования космонавтов в раннем послеполетном периоде, при обнаружении локальных петехиальных кровоизлияний в мягкие ткани, 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 в условиях модельных воздействий.

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 («сухая» иммерсия») и задач научного исследования.

Текст имеет четкую структуру, изложен соответствующим научным стилем с использованием специальной терминологии. Достижение решения поставленных задач определило положения, выносимые на защиту, а также выводы работы.

Краткая характеристика основного содержания диссертации. Диссертация Гончарова Игоря Николаевича изложена на 151 странице машинописного текста, построена традиционно и содержит главы: «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 обосновал актуальность темы исследования, результаты предшествующих работ в области исследования молекулярных основ адаптационных механизмов, сформулировал цель и задачи работы, отразил научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методологию и методы исследования, положения, выносимые на защиту, указал степень достоверности и привел сведения об апробации результатов исследования.

В обзоре литературы приведено краткое описание современного взгляда на механизмы гемостаза, применительно к задачам исследования и особенностей воздействия перегрузок на организм человека в экспериментах. Автор обоснованно обращается к работам основоположников гравитационной физиологии. Так, в исследованиях Дыскина Е.А. и соавт. была показана зависимость изменения строения стенки сосудов внутренних органов от градиента нарастания и спада величины перегрузки. Этими авторами было

установлено, что степень структурных повреждений зависит от расположения оси действия перегрузок к направлению расположения сосуда. Поэтому в одном объеме поверхности тела находятся сосуды с разной степенью морфо-структурных изменений (Котовский, Шимкевич). Эти литературные данные сформировали основу для аналитических подходов поиска связи достоверно-изменившихся белков в группе космонавтов с геморрагической пурпурой с биологическими процессами «травма сосуда», «заживление после травмы», процессами ангиогенеза.

Материалы и методы исследования содержат описание объема исследований, условий проведения экспериментов, в которых были собраны образцы крови - «Протеом крови и мочи» и «21-суточная сухая иммерсия», циклограмм обследования, методов исследования, в том числе, сбора и пробоподготовки образцов, хромато-масспектрометрического анализа, статистического и биоинформационного анализа результатов исследования. Одно из явных преимуществ диссертационной работы Гончарова И.Н. состоит в том, что она выполнена полностью на материалах реальных космических полетов и модельного эксперимента – 21-суточной сухой иммерсии. Важной особенностью, для физиологии, является и то, что исследование механизмов развития различных модификаций, в том числе, и на молекулярном уровне, в работе Гончарова И.Н. осуществляется при сравнении состояния белкового состава крови «до и после» воздействия. Это придает полученным данным не только важность, но и делает их уникальными, не имеющими аналогов.

Последующие четыре раздела работы содержат детальный анализ **результатов** протеомного ответа, сопровождающего микрососудистую травму заключительного этапа космических полетов, протеомного профиля лиц с микрососудистой травмой после ортопробы в условиях 21-суточной иммерсии. Показано, что в крови космонавтов с проявлениями вторичной геморрагической пурпуры, возникшей на заключительном этапе после продолжительного КП, методами полуколичественной протеомики на основе хроматомасспектрометрии выделяется группа из 19 белков с достоверно различающейся концентрацией на первые сутки после космического полета по сравнению с

индивидуальными предполетными данными. Биоинформатическим анализом среди них выделены 9 белков (Alpha-1-antichymotrypsin, Alpha-1-antitrypsin, Angiotensinogen, Antithrombin-III, C-reactive protein, Cadherin-1, Fibulin-3, 72 kDa type IV collagenase, Haptoglobin), участвующих в биологическом процессе «травма сосудов». Выделены белки - протекторы и белки – кандидаты в маркеры рисков развития сосудистых изменений. Количественный метод протеомики с применением целевой пептидной панели, использованный для хромато-масс-спектрометрии с мониторингом множественных реакций (ЖХ/МРМ-МС) показал, что фоновые показатели протеома крови у групп космонавтов с выявленными постполетными геморрагиями и без таковых достоверно отличались по параметрам показателей: Plasminogen, Coagulation factor 11, Kininogen-1, Vitamin K-dependent protein S, Vitronectin, predisposing to development of secondary hemorrhagic purpura after completion of CP.

К 21-м суткам СИ в крови добровольцев выявлен 31 белок с достоверно различающимся уровнем относительно фонового периода перед экспериментом. С помощью программы ANDSystem выделено 7 белков, непосредственно связанных с биологическим процессом «травма сосудов»: Haptoglobin, Fibrinogen alpha chain, Fibrinogen beta chain, Fibrinogen gamma chain, Fibronectin, Vitronectin, Clusterin. Биоинформатические программы позволили показать, что адаптационный ответ на условия 21-суточной «сухой» иммерсии включает группу белков, регулирующих процессы ангиогенеза: Haptoglobin, Fibrinogen gamma chain, Fibronectin, Vitronectin, S100 A9, Prothrombin, Apolipoprotein A-I, Transthyretin. Повышенные уровни факторов свертывания и фибринолиза, активация системы комплемента, формирование новых белок-белковых взаимодействий увеличивают проницаемость сосудов и риск микрососудистой травмы после 21-суточной СИ.

Были установлены связи между белками крови с достоверно изменяющейся концентрацией и процессами ангиогенеза после окончания КП. Выделены белки – потенциальные маркеры рисков сосудистых повреждений и потенциальные мишени для профилактики нарушений ангиогенеза: VE cadgedrin, Anastellin, Cystatin-C, Lumican, GRP 78, Fibronectin, Neuropilin-2, S100 A9.

Отмечено, что сравнение списков белков с достоверно увеличенным уровнем к 21-м суткам СИ и на 1-е сутки после КП показало их сходство. Полученные данные имеют фундаментальное значение понимания общности процессов белковой регуляции, лежащей в основе генеза изменений состояния микрососудистого русла и развития вторичной геморрагической пурпуры на 1-е сутки после КП и 21-суткам сухой иммерсии.

Далее следует раздел **«Выводы»**, после которого приводятся **Практические рекомендации**. Отмечу важность практических рекомендаций, применительно к использованию в практике авиакосмической медицины в области перспектив разработки диагностических панелей для лиц с геморрагической пурпурой после перегрузок, формирования групп риска, совершенствования методов реабилитации и профилактики геморрагической и ортостатической пурпуры. Приятно отметить **благодарность** автора всем, кто оказывал помощь в организации работы.

В работе имеется **список рисунков, схем, таблиц, список сокращений и список использованной литературы**.

В целом текст диссертации написан хорошим языком, изложенный материал структурирован.

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

Несомненным достоинством работы является то, что работа проведена на материалах реальных космических полетов и соответствующего наземного модельного исследования. Отметим личный вклад автора в сборе материала, пробоподготовке, анализе и обсуждении полученных данных. Важность данной темы диссертационной работы подтверждается публикациями материалов по теме диссертации в 10 печатных работах, из них 4 статьи опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, докладами на 16 всероссийских, международных конгрессах и научно-практических конференциях.

При анализе материалов диссертации появились следующие вопросы и замечания:

- 1) Не совсем ясно, почему использовался и полуколичественный, и количественный методы жидкостной хромато-массспектрометрии? Насколько сопоставимы результаты, полученные каждым из этих методов?
- 2) Какие белки Вы выделяете как потенциальные биомаркеры сосудистых повреждений и/или тромбоза?
- 3) В тексте встречаются синонимы в используемых терминах.
- 4) Часть рисунков и таблиц содержит международные общепризнанные обозначения на английском языке.

Отметим, что указанные замечания и вопросы не носят принципиального характера и не уменьшают научной ценности диссертационного исследования.

Общее заключение

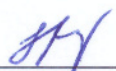
Объем и организация исследований, применение современных высокоточных методов хромато-массспектрометрии, статистических и биоинформатических программ анализа данных обосновывают достоверность, теоретическую и практическую значимость полученных результатов. Выводы диссертации соответствуют полученным результатам и являются обоснованными. Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основное содержание диссертации, характеризуют результаты проведенных исследований.

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 актуальные научно-практические задачи исследования модификации протеома 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; оценки особенностей протеомной регуляции ангиогенеза у космонавтов с микрососудистой травмой, выявляемой после приземления и процессы ангиогенеза, как адаптационный ответ на условия 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 последующими редакциями, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор достоин присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.7 – Авиационная, космическая и морская медицина.

Официальный оппонент

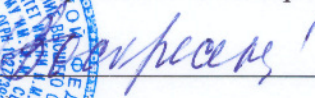

(подпись, необходимо заверить)

(Чеботарева Наталья Викторовна)
ФИО

Доктор медицинских наук профессор кафедры внутренних,
профессиональных болезней и ревматологии
федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего
образования «Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации (Сеченовский университет)

Сведения о д.м.н. профессоре Н.В. Чеботарева подтверждаю:




(подпись)

(Воскресенская Ольга Николаевна)
ФИО

Адрес организации: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр.2, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), <https://www.sechenov.ru/>.