ОТЗЫВ ОФФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора В.В. Базарного на диссертацию Сергеевой Екатерины Андреевны на тему: «Влияние моделированной микрогравитации на мегакариоцитарные клетки человека in vitro» по специальности 3.3.3– Патологическая физиология

Актуальность темы исследования

Микрогравитация является одним из факторов, оказывающих влияние на функции клеток и тканей организма во время космического полета. Интерес к этой проблеме повышается в последние десятилетия в связи с расширением сферы деятельности человека, в том числе – за пределами планеты. На основании современных научных данных можно полагать, что на клеточно-тканевом уровне факторы космического полета изменяют пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток вследствие модификации их секреторных, адгезивных и миграционных и других свойств. Вероятно, нарушение регуляции клеточного гомеостаза создает риски для развития ряда патологических процессов. Поэтому изучение механизмов микрогравитации на организм необходимо для формирования новых концепций обеспечения жизнедеятельности организма в необычных условиях и патогенетического обоснования разработки новых реабилитационных стратегий для космонавтов. При этом следует отметить, что в настоящее время имеются фрагментарные данные о торможении пролиферации и дифференцировки гемопоэтических клеток-предшественников с развитием в последующем умеренной цитопении у космонавтов. Это требует углубленного рассмотрения механизмов регуляции гемопоэза, и в том числе - тромбоцитопоэза в условиях микрогравитации. В связи с вышеизложенным не остается сомнений в том, что тема диссертационной работы Е.А.Сергеевой вполне актуальна.

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

Работа представляет научное исследование, выполненное на достаточном для статистического анализа объеме экспериментального материала и высоком методическом уровне.

Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, определяется адекватным планированием экспериментов, четко сформулированной рабочей гипотезой по выяснению эффекта микрогравитации на параметры клеточного цикла и другие клеточные характеристики. Результаты получены на высокотехнологичном оборудовании с использованием современных и информативных методов (в том числе – иммунофенотипирование, иммуногистохимия, вестерн-блот и другие). Интерпретация результатов проводилась на основе анализа данных мировой научной литературы по соответствующей тематике.

Достоверность полученных результатов, изложенных в диссертационной работе, определяется применением для выполнения поставленной цели и решения сформулированных задач комплекса адекватных и объективных методов исследования, достаточным объемом проведенных исследований, статистической обработкой полученных данных, полнотой и широтой литературно-библиографической справки. Выводы и положения, выносимые на защиту, конкретно сформулированы, аргументированы и логично вытекают из проведенного исследования, в полной мере отражают поставленные задачи. Личный вклад автора очевиден - он отражен в публикациях и выступлениях.

Научная новизна исследования

Диссертация Е.А.Сергеевой является одним из первых исследований, в котором изучалось влияние моделированной микрогравитации на мегакариоцитарные клетки-прекурсоры.

В данном исследовании автором впервые изучено влияние моделированной микрогравитации на морфофункциональные характеристики

мегакариобластной клеточной линии MEG-01, в том числе: жизнеспособность клеток и экспрессия маркеров пролиферации и апоптоза, на клеточный цикл и на экспрессию генов циклинов, и т.д. Полученные оригинальные данные свидетельствуют о развитии клеточного стресса в клетках MEG-01 в моделируемых условиях.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Исследование носит фундаментальный характер и расширяет наши представления о функционировании организма в условиях воздействия микрогравитации как важного фактора внешней среды. Теоретическая значимость результатов проведенного исследования заключается в получении новых сведений о влиянии микрогравитации на человека, а в более общем виде – о действии физических факторов космического полета.

Использованный автором подход может быть транслирован и на другие планируемые работы в качестве модели для изучения влияния микрогравитации на механизмы функционирования клетки.

Практическое значение диссертации заключается в том, что полученные данные могут быть учтены в разработке новых здоровьесберегающих технологий в условиях космического полета и после его завершения, в том числе – при выполнении трудовых функций.

Результаты проведенного диссертационного исследования могут быть успешно использованы в учебном процессе на кафедрах патофизиологии при изучении раздела «Действие факторов космического полета. Гравитационная патофизиология».

Оценка содержания диссертации

Диссертация написана по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы исследований», результаты исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, список литературы. Работа изложена на 96 страницах машинописного текста (без списка литературы), содержит 27 рисунков и 2 таблицы. Список

использованной литературы включает 280 источников, в том числе 30 на русском языке.

Во «Введении» работы автор обосновывает актуальность изучаемой проблемы, корректно формулирует цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, научную новизну и значимость работы.

В обзоре литературы представлены как самые современные, так и классические фундаментальные данные отечественных и зарубежных исследователей по вопросу влияние микрогравитации на организм. В нем описаны общие представления о мегакариоцитопоэзе и влиянии на него изучаемого фактора. В целом, обзор информативен, полностью соответствует современному состоянию изучаемой проблемы. Автором продемонстрировано хорошее знание современной научной литературы по изучаемой проблеме. В данном разделе автором не только приводятся отдельные научные факты, но и делается их анализ. По этой главе нет существенных замечаний, но стоит отметить, что автором сделана попытка в общем виде и кратко описать формирование и функции тромбоцитов, что, возможно, было излишним, так как в дальнейшем собственно тромбоциты не изучались.

В главе «Материалы и методы исследований» изложены методики исследований. Они являются современными и объективными. Среди них наряду с вышеперечисленными стоит отнести анализ клеточного цикла, экспрессию генов циклинов и другие. Несомненным достоинством работы является использование в качестве тест-объекта клеток уникальной линии MEG-1, что позволило достаточно убедительно ответить на вопрос о влиянии микрогравитации на пролиферацию клеток мегакариоцитарного дифферона. Данная клеточная линия, полученная в 1983 году, довольно редко используется отечественными авторами. Поэтому в данной работе стоило более подробно описать ее характеристики.

В представленной диссертационной работе использованы стандартные протоколы работы с клеточными культурами и проточной цитометрии.

Статистическая обработка адекватна, позволила выявить существенные различия между контрольной и опытными пробами. Она выполнена с применением современных статистических программ.

В главе «Результаты» диссертант оценивает полученные собственные данные. В частности, в соответствии с задачами работы рассматриваются экспрессия стимуляторов клеточного цикла (циклинов), активность апоптоза и уровень белков-регуляторов этого процесса. Материал главы хорошо иллюстрирован графиками, скатерограммами, гистограммами, микрофотографиями.

В главе «Обсуждение результатов» автор сопоставляет характеристики клеток, полученные разными способами и анализирует их с использованием данных других исследователей, опубликованных в открытой печати. Изложение результатов и их обсуждение четко структурированно и последовательно. Противоречий по полученным данным выявлено не было.

В разделе «Заключение» еще раз в краткой форме акцентируется актуальность проблемы, новизна и значение полученных результатов. Автор обсуждает предполагаемые механизмы обнаруженных изменений со стороны клеток в условиях воздействия оборудования для случайного позиционирования на клетки ин витро и возможные направления развития клеточных адаптационных реакций. Логическим завершением главы является патогенетическая схема влияния микрогравитации на клетки мегакариоцитарного ростка кроветворения.

Выводы диссертации (в количестве 5) сформулированы четко и ясно, основаны на достоверных фактических результатах, полностью соответствуют задачам исследования.

Материалы, изложенные в диссертации, опубликованы в 7 научных работах, 4 из которых в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России. Результаты диссертационного исследования в достаточной степени были представлены в докладах на научных конференциях.

Принципиальных возражений концепция работы, положения, выносимые на защиту, полученные данные не вызывают.

К несущественным замечаниям по главе «Результаты» следует отнести следующее.

В тексте главы встречаются единичные некорректные фразы, например: «РНК, ответственная за его синтез, была стабильно ниже в RPM группе по сравнению с контролем, составляя 0,84±0,13…», при этом не приводятся единицы измерения.

Излишней представляется оценка экспрессии CD19 на клетках линии MEG-01, поскольку этот маркер типичен для В-лимфоцитов. Поэтому полученный отрицательный результат закономерен.

Возможно, стоило часть полученных результатов представить в данной главе в виде таблиц.

Эти замечания являются техническими и не снижают положительную оценку работы в целом.

Считаю необходимым в плане научной дискуссии поставить ряд вопросов перед соискателем:

1. Для оценки иммунофенотипа клеток была произведена детекция маркеров ранних миелоидных прекурсоров - CD13 и CD33. В то же время известно, что более зрелые клетки мегакариоцитарного дифферона отличаются экспрессией CD36, CD41, CD61. Присутствуют ли данные маркеры на клетках линии MEG-01, что важно знать для понимания дифференцировки этих клеток?

2. Наблюдалось ли образование тромбоцитарно-подобных частиц в суспезионных культурах MEG-01 в процессе культивирования?

3. На заключительном рисунке 27 схематично описано влияние микрогравитации на функции мегакариоцитов, но акцент сделан на изменении их функциональных характеристик. Хотелось бы уточнить - как влияет микрогравитация на продукцию тромбоцитов и какие механизмы вовлечены в этот процесс?

Заключение

Диссертация Сергеевой Екатерины Андреевны «Влияние моделированной микрогравитации на мегакариоцитарные клетки человека in vitro», выполненная под руководством кандидата биологических наук Соколовской Алисы Анатольевны и представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи – оценка влияния микрографитации на морфофункциональный статус клеток мегакариоцитопоэза. Результаты работы имеют существенное значения для патологической физиологии.

По актуальности, содержанию, методическому уровню исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Сергеевой Е.А. соответствует критериям п.9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации «О порядке присуждения учёных степеней» от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Главный научный сотрудник
отдела общей патологии ЦНИЛ
ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России,
д.м.н., профессор, засл.деятель науки
«26» мая 2025 года. В.В. Базарный

Подпись профессора В.В. Базарного «Заверяю»
Начальник управления кадровой политики Тарапунец М.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3, 620028. Тел.: 8(343)214-86-52. E-mail: usma@usma.ru, веб-сайт: www.usma.ru.