



Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Государственный научный центр
Российской Федерации

**ИНСТИТУТ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ**

Российской академии наук

(ГНЦ РФ-ИМБП РАН)

ИНН/КПП 7714038980/771401001

ОГРН 1027739333710

Хорошевское шоссе, д. 76А, г. Москва, 123007
телефон: (499) 195-15-73, факс: (499) 195-22-53
e-mail: doc@imbp.ru <http://www.imbp.ru>

№ 109/

На №

от

УТВЕРЖДАЮ

Директор

Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Государственного научного центра
Российской Федерации Институт
медико-биологических проблем
Российской академии наук, д.м.н.,
академик РАН



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Государственного научного центра Российской Федерации -
Института медико-биологических проблем Российской академии наук
на диссертационную работу Сергеевой Екатерины Андреевны «Влияние
моделированной микрогравитации на мегакариоцитарные клетки человека *in vitro*»,
представленной на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности
3.3.3 – Патологическая физиология.

Актуальность темы и степень разработанности темы исследования

Космический полет может вызывать серьезные патофизиологические изменения в организме человека: нарушение функции сердечно-сосудистой системы, метаболические и эндокринные сдвиги, мышечную атрофию, остеопению, иммунную дисрегуляцию. Изучение физиологических и патофизиологических процессов в экстремальных условиях помогает лучше понять механизмы адаптации здорового организма и роль гомеостаза в этих процессах. Значительная часть исследований в области космической биологии и медицины посвящена рискам, возникающим в космических полетах для здоровья человека, какими являются космическая радиация и микрогравитация. Влияние микрогравитации на основные функции клеток

изучается в различных модельных системах во время и после космического полета. Несмотря на разные принципы работы наземных устройств, они значительно увеличили потенциал исследований в области моделирования эффектов микрогравитации.

Исследования показали, что при моделировании микрогравитации активируется мегакариопоз, повышается эффективность образования тромбоцитов. В условиях моделируемой микрогравитации происходит ингибирование миграции, задержка прогрессирования клеточного цикла с последующей задержкой роста и нарушением паттернов дифференцировки гемопоэтических предшественников, что может объяснять изменения в количестве тромбоцитов. Эксперименты, проведенные во время космического полёта, также описывают нарушение трансдукции сигнала апоптоза и межклеточного взаимодействия. В последнее время наземное моделирование микрогравитации всё активнее применяется как уникальная платформа для поиска и создания лекарственных препаратов, клеточной терапии и инженерии, а также для внедрения методов персонализированной терапии. Влияние микрогравитации на клеточные ответы и физиологическое состояние мегакариоцитов до сих пор не детально анализировалось, поэтому актуальность выбранной темы не вызывает сомнения.

Новизна полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Настоящее диссертационное исследование стало первой целенаправленной экспериментальной оценкой влияния моделирования эффектов микрогравитации на иммортализованные мегакариобласты. Основные результаты исследования являются оригинальными и показывают динамику адаптации клеток к снижению гравитационной нагрузки. Впервые в условиях моделированной микрогравитации проанализированы морфофункциональные характеристики мегакариобластной клеточной линии MEG-01, включая жизнеспособность, пролиферацию и экспрессию основных белков апоптоза (BAX, BAK, цитохрома C) и ингибитора апоптоза Bcl-2.

Получены оригинальные данные, свидетельствующие о развитии клеточного стресса в клетках MEG-01 в условиях моделированной микрогравитации, в том числе, накопление альфа-тубулина вокруг ядер клеток, снижение экспрессии CD33, задержка клеточного цикла при переходе в фазу G2/M, а также изменение экспрессии генов циклинов. Важно отметить, что предшествовавшие данные о влиянии микрогравитации на функциональную активность тромбоцитов носили в основном описательный характер и были немногочисленны.

Практическая и теоретическая значимость исследования

Теоретическая ценность данного исследования заключается в получении новых фундаментальных знаний о влиянии гравитационного фактора на функциональное состояние мегакариоцитарных клеток и возможном вкладе этого механизма в патофизиологию негативного влияния факторов космического полета на человека. Это может помочь лучше понять механизмы изменения звеньев гемопозза в условиях опорной разгрузки и взаимосвязь сигнальных механизмов, обеспечивающих пролиферацию и апоптоз клеток *in vitro*.

С практической точки зрения, используемая модель рандомизации положения культивируемых клеток относительно вектора гравитации потенциально может быть использована не только для культивирования первичных клеточных культур и клеточных линий, но и для создания трехмерных тканеподобных конструкций. В перспективе, данная клеточная модель может быть использована для тестирования фармакологических средств *in vitro* и разработки новых методов тканевой инженерии.

Структура, содержание и завершенность диссертационной работы

Диссертационная работа Сергеевой Екатерины Андреевны написана по традиционной форме и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, список сокращений, список литературы, включающий 30 отечественных и 280 зарубежных источника. Работа изложена на 126 страницах, иллюстрирована 2 таблицами и 27 рисунками. Цель и задачи диссертационной работы сформулированы четко. Выводы соответствуют поставленным задачам. По материалам диссертационной работы Е.А.Сергеевой опубликовано 7 научных работ, в том числе, 4 статьи, из них 3 – в журналах, рекомендованных ВАК, и 3 тезисов.

В соответствии с общепринятой практикой, во введении автор обосновал актуальность исследования и представил его цель и задачи, основные выносимые на защиту положения, новизну, теоретическую и практическую значимость, а также данные об апробации исследования. Формулировки цели и задач работы являются конкретными и обоснованными, каждая из задач является полноценной и соответствует обозначенной цели. Основные положения, выносимые на защиту, находятся в соответствии с выводами, сформулированными по результатам исследования и приведенными в конце работы.

Глава «Обзор литературы» разделена на три крупных раздела. Первый раздел посвящен физиологическим особенностям биологии клеток в условиях моделированной микрогравитации. Во втором разделе описаны происхождение и структура мегакариоцитов и тромбоцитов. В заключительном разделе диссертант привел анализ особенностей исследования функций тромбоцитов в условиях микрогравитации. Анализ литературных источников сопровождается графическим материалом, что облегчает восприятие материала.

Глава «Материалы и методы» содержит подробное описание использованных в работе методик исследования культивируемых клеток *in vitro*, а также специфических подходов к моделированию эффектов микрогравитации. Методы исследования описаны достаточно подробно. Использованные методики и клеточные модели адекватны поставленным цели и задачам.

Глава «Результаты» в соответствии с поставленными задачами состоит из 5 разделов, в которых описано влияние RPM-моделированной микрогравитации на выживаемость и пролиферацию мегакариоцитарных клеток (MEG-01), их фенотипические характеристики, морфологические свойства и цитоскелет, апоптоз, клеточный цикл и регуляторные белки клеточного цикла. В Главе 4 автор обсуждает полученные результаты, а в Заключение обобщает выявленные изменения, указывая на появление адаптивных реакций организма, развивающихся в ответ на невесомость, что вносит вклад в понимание патогенетических процессов во время космических полетов.

Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации и требованиям п. 25 Положения о присуждении ученых степеней.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Работа выполнена на высоком методическом уровне с применением современных молекулярно-клеточных подходов. Сергеева Е. А. использовала широкий спектр цитологических методов, а также иммуноферментный анализ, вестерн-блот, проточную цитофлуориметрию, экспрессию генов с помощью ПЦР и флуоресцентную микроскопию,

Представленное исследование обладает внутренней целостностью, ход исследования логичен, исследование является завершенным. Научные положения и выводы соответствуют полученным экспериментальным результатам, обоснованно сформулированы и полностью отвечают

поставленным цели и задачам. Надежность выводов исследования обеспечена использованием адекватных методических подходов, статической обработкой данных и анализом литературных данных

Замечания, вопросы, рекомендации

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

При анализе экспериментальных результатов работы возникли вопросы, которые можно обсудить в порядке дискуссии при защите работы:

1. В качестве контроля и для нормализации белка для Вестерн-блот анализа использовались антитела к β -актину. Однако, существуют данные об изменениях актинового цитоскелета во время моделирования микрогравитации, особенно в начальные периоды воздействия. Есть ли данные о чувствительности актинового цитоскелета клеток мегакариобластов и, в частности, MEG-01, к механическим воздействиям и механической разгрузке? Осуществлялся ли контроль стабильности экспрессии белка β -актина?
2. По данным проточной цитометрии процентное содержание апоптотических клеток было значительно выше в группе RPM, чем в группе статического контроля. Каков нормальный уровень апоптоза в культуре MEG-01?
3. Оценка пролиферативной активности с помощью эндогенного маркера Ki-67 методом проточной цитофлуориметрии показала снижение пролиферации клеток MEG-01 в группе RPM через 72 часа, тогда как через 96 часов и 168 часов существенной разницы между группой RPM и группой статического контроля не наблюдалось. Как можно объяснить повышение гибели клеток после 168 часов экспозиции на RPM и при этом одинаковый уровень активности Ki-67? Сохраняется активность Ki-67 при торможении клеточного цикла в фазе G2/M?

Заключение

Диссертационная работа Сергеевой Екатерины Андреевны «Влияние моделированной микрогравитации на мегакариоцитарные клетки человека *in vitro*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3 – Патологическая физиология, является грамотно выстроенным, завершенным научно-квалификационным исследованием. Все поставленные задачи успешно выполнены. Принципиальным результатом, полученным автором, является экспериментальное доказательство значимого влияния моделируемой микрогравитации на мегакариоцитарные клетки человека *in vitro*. Данный

результат обосновывает гравитационную чувствительность мегакариоцитов и актуализирует поиск новых подходов диагностики и терапии изменений гемопоэза в условиях космического полета.

Диссертационная работа соответствует п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842) в текущей редакции, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.3 – Патологическая физиология.

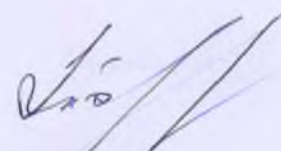
Отзыв на диссертацию заслушан и одобрен на заседании секции «Космическая биология» Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации - Института медико-биологических проблем Российской академии наук, 3 июня 2025 года, протокол № 22.

Доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН, заместитель директора
по научной работе, зав.лабораторией клеточной
физиологии Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Государственного научного центра
Российской Федерации - Института медико-
биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ
РФ-ИМБП РАН),

123007, г. Москва, Хорошевское ш., 76а

Тел.: +7(499)195-22-43

doc@imbp.ru; <http://www.imbp.ru>



Буравкова
Людмила Борисовна

Подпись Буравковой Л.Б. заверяю:

Ученый секретарь

ГНЦ РФ-ИМБП РАН, д.б.н.



М.А. Левинских

М.П.



Контакты ведущей организации

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-
биологических проблем Российской академии наук

Адрес: 123007, г. Москва, Хорошевское ш., д. 76а

Телефон: +7 (499) 195-15-00, электронная почта: doc@imbp.ru.

Сайт: [http:// www.imbp.ru](http://www.imbp.ru)