

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Пономарёва Сергея Алексеевича «Молекулярно-клеточные основы иммунного гомеостаза человека при космическом полёте и других экстремальных воздействиях», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности: 3.3.7. «Авиационная, космическая и морская медицина»

### **Актуальность исследования.**

Перспектива увеличения продолжительности полетов в ближний и дальний космос ставит перед космической биологией и медициной новые задачи, связанные с разработкой профилактических мер по сохранению здоровья астронавтов в условиях профессиональной деятельности на МКС. Среди наиболее уязвимых систем организма как к условиям орбитального полета, так и другим экстремальным воздействиям можно выделить иммунную систему, деятельность которой в физиологических и патологических условиях до сих пор содержит большое число нерешенных вопросов. В связи с этим диссертационная работа Пономарёва С.А., посвященная молекулярно-клеточным аспектам исследования иммунной системы в условиях действия экстремальных факторов среды обитания, в первую очередь, реального и моделируемого космического полёта, обладает высокой актуальностью. На сегодняшний день известно о высокой чувствительности иммунной системы к различным неблагоприятным условиям среды обитания, одной из первых, реагирующих на меняющиеся условия жизнедеятельности. При этом даже незначительные дискоординации структурных компонентов иммунной системы могут обладать достаточным индуктивным влиянием к формированию стойких изменений гомеостаза с далеко идущими последствиями в аспекте развития патологий, в том числе заболеваний инфекционной и неинфекционной природы. Среди последних необходимо отметить аутоиммунные, аллергические, онкологические заболевания и ряд других патологических состояний, обусловленных функциональным искажением деятельности молекулярно-клеточных звеньев иммунной системы.

Таким образом, диссертационное исследование Пономарева Сергея Алексеевича обладает несомненной актуальностью, поскольку, с одной стороны, затрагивает вопросы фундаментальной медицины, а с другой стороны, нацелено на разработку новых алгоритмов средств профилактики и методов коррекции

ИМБП ВХ. № 08/2700  
от "26" 09 2023 г.

действия экстремальных условий на организм человека, что представляет собой важнейшие трансляционные аспекты персонализированной медицины, прежде всего, космической биомедицины.

### **Научная новизна**

Впервые проведено комплексное исследование молекулярно-клеточных реакций системы иммунитета при широком спектре экстремальных воздействий. Автор впервые обнаружил преимущественно активирующие эффекты условий сверхнизких температур на клеточные факторы адаптивного и врождённого компонентов иммунной системы человека. Пономарев С.А. впервые проанализировал молекулярно-клеточные особенности реагирования иммунной системы в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии испытателей, выявив разнонаправленные реакции различных звеньев иммунитета. В частности, диссертант выявил факты особенностей динамики содержания активированных регуляторных Т- лимфоцитов, а также обнаружил негативные последствия для клеточных показателей системы естественной резистентности. Автор обнаружил изменение экспрессии толл-подобных рецепторов (далее – TLRs) как в структурах плазматической мембраны, так и внутриклеточной локализации моноцитов и гранулоцитов периферической крови, что имеет важнейшее значение для состояния врожденного иммунитета. При этом автор впервые выявил снижение активационного потенциала представителей моноцитарно-макрофагального ряда иммунокомпетентных клеток в ответ на стимуляцию соответствующими лигандами *in vitro*. Помимо разнонаправленных изменений экспрессии генов, ассоциированных с TLRs, автор выявил факт снижения биогенеза цитокинов в клетках врожденного и адаптивного иммунитета в условиях «сухой» иммерсии, что является важной научной находкой для интерпретации изменений иммуногенеза в условиях космического полета. Автор впервые обнаружил признаки усиления гуморального ответа по критериям Th1/Th2 баланса вместе со снижением возможности моноцитов продуцировать связанные с развитием воспалительного ответа цитокинов при стимуляции лигандами TLRs.

Автор впервые выявил, что условия пребывания испытателей на центрифуге короткого радиуса, а также ослабленного уровня магнитного поля Земли (продолжительностью 16 часов) не приводили к значимым перестройкам исследуемых молекулярно-клеточных параметров иммунной системы. В то же время эксперименты с изоляцией испытателей в обитаемых герметизируемых объектах показали достаточную чувствительность параметров физиологической

активности эффекторных клеток как врожденного, так и адаптивного иммунитета к воздействию искусственной среды обитания, что может отражаться на состоятельности иммунитета в целом. При этом 10-суточное пребывание в гермообъекте с кислородно-азотно-аргоновой гипоксической газовой смесью при избыточном давлении оказывало в основном активирующее влияние как на параметры неспецифического, так и приобретенного иммунитета человека.

Важным достижением проведённой работы является анализ автором начальных этапов иммуногенеза в изоляционных условиях. В частности, Пономарев С.А. получил данные о наибольших изменениях состояния рецепторов, опознающих патогены, на раннем периоде адаптации иммунной системы человека к экспериментальным условиям.

Отдельно необходимо отметить полученные автором данные, при длительном космическом полете, которые затрагивают состояние образ-распознающих рецепторов на различных клеточных представителях как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Результаты проведенного анализа позволяют Пономареву С.А. свидетельствовать о существовании разнонаправленных алгоритмов реагирования неспецифического и приобретенного иммунитета в условиях, прежде всего, микрогравитации, которые затрагивают как сигнальные пути TLRs, так и соотношение иммунокомпетентных клеток с цитоплазматической и поверхностной локализацией TLRs.

Таким образом, Пономарёв С.А. впервые обнаружил, что различные факторы окружающей среды оказывают воздействие на молекулярно-клеточном уровне на разные звенья иммунного процесса, начиная с экспрессии рецепторов, распознающих антигенные структуры и заканчивая функциональной активностью клеток иммунной системы. При этом особую ценность представляют данные о состоянии иммунитета человека, полученные после повторных воздействий, в первую очередь, после космических полётов.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость диссертационной работы Пономарёва С.А. заключается, в первую очередь, в сформулированной научной концепции, наглядно иллюстрирующей функционирование иммунитета при воздействии изученных условий окружающей среды и свидетельствующей об отсутствии строгой специфичности иммуногенеза на воздействие исследованных внешних факторов. Полученные Пономарёвым С.А. данные существенным образом расширяют современные представления о процессах, происходящих в системе иммунитета при

действии экстремальных факторов среды обитания, прежде всего, ассоциированных с космическим полётом. Автор выявил присутствие персональных особенностей функционирования врожденного и/или приобретенного иммунитета, в том числе в зависимости от периода адаптации к новым условиям существования, имеющих разнонаправленные молекулярно-клеточные реакции на различных уровнях иммуногенеза. Полученные результаты важно учитывать в дальнейших исследованиях механизмов адаптации иммунной системы к изменяющимся условиям среды обитания.

Практическая значимость выполненного Пономарёвым С.А. диссертационного исследования не вызывает сомнений. Во-первых, стоит отметить разработанную лично автором оригинальную методику оценки состояния врождённого иммунитета, включающую в себя оценку экспрессии TLRs на иммунокомпетентных клетках, а также оценку их функциональной активности по определению цитокинпродуцирующего потенциала при стимулировании TLR как отдельными соответствующими лигандами, так и их комплексом. Во-вторых, Пономарёвым С.А. было убедительно показано, что профилактические мероприятия, направленные на поддержание иммунного гомеостаза, целесообразно начинать за несколько дней до начала воздействия экстремальных факторов и продолжать как минимум в течение недели после завершения профессиональной деятельности в неблагоприятных условиях. Ценным практическим аспектом выполненного исследования автором являются рекомендации для получения объективной оценки персональных особенностей иммуногенеза, в том числе необходимостью неоднократного повторения функциональных тестов в условиях экстремальных воздействий.

#### **Оформление и содержание работы**

Диссертационная работа Пономарёва С.А. построена по традиционному принципу и состоит из глав «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследований», «Результаты и обсуждение», заключения, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 427 источников, из которых 30 в отечественных и 397 в зарубежных изданиях. Текст диссертации изложен на 247 страницах, работа иллюстрирована 46 рисунками и содержит 47 таблиц. Оценивая построение диссертации в целом, следует отметить, что она оформлена в соответствии с ГОСТами и рекомендациями ВАК РФ, написана хорошим литературным языком и является масштабным законченным исследованием. Все вышеперечисленное не оставляет никаких сомнений в обоснованности и

достоверности заключения и выводов, написанных по результатам диссертационной работы.

### **Введение**

Во введении диссертантом освещается актуальность проблемы, исходя из которой формулируются цель и задачи исследования. Подробно описана новизна и научно-практическая значимость работы, далее приводятся положения, выносимые на защиту, дается справка о публикации основных результатов исследований в научных журналах и на конференциях. Пономарёвым С.А. опубликовано 30 печатных работ, входящих в список, рекомендованный ВАК. Необходимо отметить, что диссертант за время выполнения своего исследования публиковал полученные результаты в высокорейтинговых научных журналах, из которых 10 входит в перечень Q1 (по данным SJR).

### **Обзор литературы**

В главе литературного обзора в чётко структурированном виде подробно освещено актуальное состояние имеющихся знаний и результатов исследований иммунной системы в условиях действия экстремальных факторов среды обитания, в т.ч. значения температуры окружающей среды, давления и газового состава для состоятельности взаимодействия иммунокомпетентных клеток. Автор особое внимание уделил полученным к настоящему времени результатам исследования иммунной системы в условиях воздействия факторов реального космического полета, а также при моделировании физиологических эффектов невесомости. Приведенные Пономарёвым С.А. сведения наглядно показывают спектр нерешенных до сих пор фундаментальных и практических задач иммунологии, имеющих высокую научно-практическую значимость в космической биологии и физиологии экстремальных состояний. Именно в русле решения выбранных задач диссертант сфокусировал проведенные исследования. Таким образом, проведенный анализ литературы Пономаревым С.А. не оставляет сомнений в его систематическом владении информацией в выбранном направлении исследований и достаточной компетентности для достижения цели и решения поставленных задач.

### **Материалы и методы исследований**

Автор выполнил исследования на 114 условно здоровых мужчин и 15 условно здоровых женщин, что позволило достичь достаточного уровня информативности и объективности в выбранных направлениях исследований (космических полетов на МКС и соответствующих наземных модельных

экспериментов). Экспериментальные условия в наземных экспериментах по имитации физиологических эффектов невесомости и других экстремальных факторов, в том числе с “сухой” иммерсией, изоляционные эксперименты, исследования в глубоководном водолазном комплексе, в воздушной криосауне, в гипомагнитной установке “АРФА”, а также на центрифуге короткого радиуса для создания условий искусственной силой тяжести проводились в строгом соответствии с надлежащими требованиями и техническими характеристиками. Автор подробно описывает методики исследования, которые выполнены с использованием современных технологий детекции и анализа молекулярных и клеточных мишеней, включая проточную цитометрию, мультиплексный анализ, ПЦР в реальном времени, постановку клеточных культур и гематологический анализ. Использованное оборудование отвечает требованиям для получения верифицированных результатов. Корректные алгоритмы статистического анализа полученного массива данных подтверждают обоснованность сформулированных Пономарёвым С.А. выводов по результатам диссертационной работы.

#### **Результаты и их обсуждение**

Данный раздел представляет собой детальное описание полученных в ходе выполнения диссертационной работы результатов по каждому проведённому экспериментальному исследованию. В главе приводится большой объём данных, который хорошо иллюстрирован таблицами и рисунками. Некоторые наиболее объёмные таблицы вынесены в приложение к диссертации.

Глава состоит из описания результатов по наземным экспериментам, моделирующим действие ряда неблагоприятных факторов среды обитания, а также данных, полученных после завершения реальных космических полётов. Диссертант сначала приводит данные, полученные в ходе проведения экспериментов, а затем проводит их тщательный анализ. После каждого эксперимента автор делает небольшое резюме, что позволяет лучше ориентироваться в представленном материале. В завершении диссертации Пономарёв С.А. формулирует общее заключение, которое обосновывает предложенную автором научную концепцию о функционировании системы иммунитета человека при экстремальных воздействиях.

Несмотря на высокий уровень работы, выполненный по данному разделу, обращает на себя внимание ограниченное количество испытуемых в некоторых группах, что объясняется спецификой работы в области космической физиологии и медицины, где, как правило, исследователи работают с выборками малого объёма.

## **Степень обоснованности научных положений, выводов, теоретической и практической значимости**

В целом, диссертационная работа Пономарёва С.А. представляет собой крупное завершённое исследование, вносящее существенный вклад в развитие экстремальной физиологии, в первую очередь, космической иммунологии. Работа выполнена с использованием современных методов исследования, которые позволили автору получить новые актуальные и достоверные результаты. Степень обоснованности научных положений, теоретическая и практическая значимость не вызывают никаких сомнений. Выводы диссертации Пономарёва С.А. логично сформулированы на основе полученных экспериментальных данных и отражают суть полученных результатов.

Представленный автореферат диссертации по содержанию полностью отвечает требованиям ВАК РФ и соответствует диссертационной работе.

### **Вопросы и замечания**

Несмотря на высокий уровень представленной работы, к диссертации есть ряд замечаний и вопросов, не носящих критического характера.

В диссертационной работе приведены излишние данные о состоянии иммунной системы по ряду экспериментов. Например, в изоляционных экспериментах можно было бы сократить список параметров, характеризующих состояние отдельных популяций лимфоцитов, это бы облегчило восприятие материала и не повлияло на обоснованность теоретических положений диссертации. Кроме того, в приведённых таблицах представлен ряд индивидуальных данных. Для большей наглядности эти данные можно было бы представить в виде графиков. Помимо вышперечисленного, в диссертационной работе Пономарёва С.А. присутствует незначительное количество опечаток.

### Вопросы к диссертанту.

1. В настоящее время одним из актуальных направлений является освоение территорий крайнего севера, что сопряжено с рядом медико-биологических проблем. Можно ли на основании Ваших исследований создать методику по адаптации человека к длительному пребыванию в Арктических условиях?
2. Насколько динамично могут меняться показатели, характеризующие состояние иммунной системы при экстремальных воздействиях?
3. Требуют ли выявляемые изменения в состоянии иммунитета специфической коррекции?

## Заключение

Диссертационная работа Пономарёва Сергея Алексеевича «Молекулярно-клеточные основы иммунного гомеостаза человека при космическом полёте и других экстремальных воздействиях», представляет собой научно-квалификационную работу, совокупность теоретических положений которой можно квалифицировать как крупное научное достижение. Диссертация Пономарёва С.А. соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук (пп. №9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утверждённого постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013), а её автор заслуживает присуждения степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.7. «Авиационная, космическая и морская медицина».

Директор научно-образовательного ресурсного центра «Инновационные технологии иммунофенотипирования, цифрового пространственного профилирования и ультраструктурного анализа» (НОРЦ Молекулярная морфология) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»,

доктор медицинских наук \_\_\_\_\_ Атякшин Д.А.

«21» сентября 2023 г.

Подпись директора НОРЦ Молекулярная морфология, д.м.н. Атякшина Д.А.

УДОСТОВЕРЯЮ

Учёный секретарь Учёного совета ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»



\_\_\_\_\_ Курылев К.П.

«21» сентября 2023 г.

Адрес.

117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

Контактная информация: +7 (499) 936-87-87, rudn@rudn.ru,

<https://www.rudn.ru/>