

Отзыв

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Быкова Ильи Михайловича на диссертационную работу Сельской Бэлы Натановны на тему: «Метаболизм коллагена и гликозаминогликанов в коже экспериментальных животных при интрадермальном введении коллагенсодержащего инъекционного препарата», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 - биохимия (медицинские науки)

Актуальность исследования

Старение - биологический процесс, который протекает с изменениями в обмене веществ, функции и структуры тканей. Для него характерны гетеротропность, гетерохронность и гетерокинетичность развития. Изучение закономерностей метаболических сдвигов при старении остаётся актуальной проблемой, направленной на выявление фундаментальных основ жизнедеятельности и разработку их последующей коррекции.

Клинические признаки старения кожи человека проявляются достаточно рано, особенно на открытых частях тела, что обусловлено суммацией воздействия хронобиологических факторов и факторов внешней среды. В современных условиях постарения населения большинства развитых стран мира, возрастные изменения кожи оказывают заметное влияние на качество жизни людей и становится не только медико-биологическим, но и социальным фактором. В этой связи все большую значимость приобретают вопросы предотвращения и коррекции инволюционных изменений кожи. В представленной работе диссертантом проведено экспериментальное изучение характера возрастных изменений обмена в коже основных биополимеров внеклеточного матрикса и влияния на эти процессы внутридермального введения экзогенного коллагена. И тема диссертационного исследования Сельской Б.Н., безусловно, актуальна, поскольку коллагенотерапия в коррекции эстетических изменений кожи находит всё более широкое применение в косметологии, а имеющиеся в литературе данные о механизмах её фармакологического эффекта неоднозначны и изучены недостаточно.

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

Для реализации цели исследования автором сформулированы и успешно решены ряд научных задач. Работа является самостоятельным научным исследованием, проведённым на достаточном объеме материала с использованием классических и современных биохимических и иммуногистохимических методов и аппаратуры. Результаты исследований адекватно статистически обработаны с использованием пакета прикладных программ. Научные положения, выводы и практические рекомендации определены результатами исследования, соответствуют содержанию работы, поставленной цели и задачам. Используемые в диссертации экспериментальная модель и методы исследования базируются на известных и проверяемых фактах. Всё сказанное убеждает в обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций, представленных в данной работе.

Достоверность и научная новизна исследований, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Результаты, полученные в диссертационной работе, а также выводы, сформулированные диссертантом, обладают необходимой степенью научной новизны. Результаты экспериментальных исследований позволили автору изучить в коже динамику изменений с возрастом экспериментальных животных фракционного состава коллагена, окислительного дисбаланса с накоплением продуктов свободнорадикального окисления липидов и белков на фоне снижения активности антиоксидантных ферментов, и также различный характер течения окисления углеводов, направленности метаболизма коллагеновых белков и полисахаридов в коже в зависимости от сроков исследования после внутридермального введения препарата коллагена, показать стимулирующий эффект вводимого препарата на обмен веществ и пролиферативные процессы в коже. Автором впервые установлено также повышение уровня ряда факторов роста, увеличение числа клеток экспрессирующих такие маркёры пролиферации как антиген Ki-67 и фактор

роста фибробластов-1. Новизна исследования подтверждена патентами на изобретение и промышленный образец Российской Федерации.

Дизайн исследования тщательный анализ, статистическая обработка и объём проведённых исследований, использованные методы дают основание считать полученные в диссертации результаты и сделанные на их основании выводы достоверными.

Основные положения и результаты исследования доложены и обсуждены на региональных, российских и международных научных конференциях. По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 7 в научных журналах, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций.

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором

Диссертационная работа основана на экспериментальном материале и носит фундаментальный характер. Проведённые исследования позволили пополнить знания об изменениях метаболизма кожи крыс различного возраста. Результаты работы характеризуют клеточно-метаболические механизмы действия препарата нереконструированного бычьего коллагена в коже в зоне интрадермального введения методом мезотерапии. Показано, что в первые дни после внутридермального введения экзогенный коллаген подвергается интенсивному расщеплению с участием макрофагальных клеток, а в более поздние сроки (3-5 недель) приводит к метаболической активации и пролиферации клеток дермы с усилением коллагеногенеза, продукции гиалуроновой кислоты и сульфатированных гликозаминогликанов. В сыворотке крови при этом наблюдается увеличение содержания плейотропных факторов роста - ИФР-1 и ТФР- β 1, а в коже увеличение клеток, экспрессирующих маркеры пролиферации - белка Ki-67 и ФРФ-1.

Установленный фазовый характер метаболизма основных биополимеров внеклеточного матрикса в зависимости от сроков введения препарата коллагена, экспрессии и участия цитокинов и факторов роста в процессах

репарации инволюционных изменений кожи, длительность воспалительного ответа кожи на внутридермальные инъекции указывают на необходимость индивидуализации схем активации процессов восстановления возрастных изменений кожи при использовании препаратов нереконструированного коллагена.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Положения, сформулированные в диссертации, могут быть использованы в проведении дальнейших исследований по эффективности и особенностям молекулярных механизмов действия препаратов коллагена на обменные и пролиферативные процессы кожи на участках, подверженных воздействию факторов, вызывающих ускорение инволюционных изменений. Они экспериментально подтверждают необходимость разработки определённых схем применения препаратов коллагена в коже в целях омоложения. Новые сведения об изменениях метаболизма в коже при введении нереконструированного коллагена крупного рогатого скота могут быть внедрены в образовательные программы подготовки студентов медицинских вузов, а также использоваться в работе специализированных (косметологических) учреждений медицинского профиля.

Оценка содержания диссертации и её завершенности

Диссертация изложена на 168 страницах машинописного текста, содержит 10 таблиц, 9 рисунков и 37 микрофотографий гистологических и иммуногистохимических исследований кожи в приложении. Работа состоит из введения, обзора литературы, главы описания материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списков сокращений и литературы, приложения. Список литературы включает 299 источников, в том числе 162 иностранных.

Введение изложено в традиционном стиле. Автор освещает актуальность темы, формулирует цель и задачи исследования, основные

положения, выносимые на защиту, представляет научную новизну, теоретическую и практическую значимость, степень достоверности, апробации результатов исследования, а также личный вклад автора в выполнении работы, внедрение, публикации, объем и структуру диссертации.

Первая глава - обзор литературы - изложена на 26 страницах, в котором подробно представлен анализ работы по изучению особенностей структуры и метаболизма семейства коллагенов в коже, структуры, физико-химических свойств, обмена и физиологической роли гликозаминогликанов, биохимических и молекулярно-биологических изменений при старении кожи. Обзор написан достаточно полно, выверен и свидетельствует о глубоком уровне знаний диссертанта о предмете исследования.

В главе «Материалы и методы исследования» приведены данные об экспериментальной модели, схеме интрадермального введения коллагена, методах получения биологического материала и методах исследования. Эксперименты выполнены на самках крыс зрелого возраста (12-13 месяцев) и крысах молодого (3-4 месяца) возраста. Автором подробно описаны биохимические, гистологические и иммуногистохимические методы исследования, использованное оборудование и коммерческие наборы реагентов отечественных и зарубежных фирм. Доказательность полученных данных обеспечена адекватной статистической обработкой параметрическими и непараметрическими методами. Комплекс использованных методов исследований вполне информативен.

Третья глава «Результаты собственных исследований» состоит из 4 подглав, первая из которых посвящена характеристике биохимических изменений фракций коллагена кожи, уровней продуктов липопероксидации и карбонилирования белков, активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и каталаза) в ней у крыс молодого и зрелого возрастов, а также обмена коллагена в коже самок крыс зрелого возраста в области внутридермального введения нереконструированного бычьего коллагена. В работе также приведены данные, характеризующие уровень гликозаминогликанов и окислительного метаболизма углеводов кожи, содержания в сыворотке крови

провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α), факторов роста (ИФР-1, ТФР- β 1) при внутридермальном введении препарата бычьего коллагена.

Представлена характеристика гистологических изменений кожи животных в местах введения коллагена методом мезотерапии.

Результаты биохимических, гистологических и иммуногистохимических исследований позволили автору прийти к заключению о том, что первые сутки после внутридермального введения препарата коллагена в коже усиливается коллагенолитическая активность кожи, процессы анаэробного окисления с активацией потребления гликогена, а в отдалённые сроки (3-5 недель) в коже выявляется активация аэробного окисления глюкозы, синтеза собственного коллагена и гликозаминогликанов. В этот период в сыворотке крови увеличивается содержание факторов роста, усиливается пролиферация клеток эпителия кожи, фибробластов, эпителиальных клеток волосяных фолликул, эндотелиальных клеток стенок сосудов.

В главе «Обсуждение результатов» автор анализирует и раскрывает возможные механизмы изменений метаболизма кожи в процессах возрастной инволюции и доказывает положительный эффект введения нереконструированного коллагена на измененный обмен веществ в коже.

В заключении диссертант приводит обобщение результатов выполненного исследования.

Выводы вытекают из сущности исследования, отражают основные результаты, объективны и соответствуют цели и задачам работы.

Список литературы составлен в соответствии с требованиями ГОСТ.

Автореферат и опубликованные статьи отображают основное содержание диссертации.

Достоинства и недостатки содержания и оформления диссертации

Диссертация оформлена согласно требованиям. Она представляет самостоятельно выполненную, завершённую научно-квалификационную работу, в которой получены новые сведения об изменениях метаболических процессов в коже крыс зрелого возраста, обоснованы метаболические критерии коррекции возрастных изменений кожи с использованием

препарата немодифицированного коллагена. Работа содержит достаточный для диссертации на соискание учёной степени кандидата медицинских наук объем исследований, позволяющий получить обоснованные и правомочные научные положения и выводы, отвечающие требованиям пунктов 5 и 10 паспорта специальности 03.01.04 - биохимия. Поставленные цель и задачи исследования в работе решены. Результаты исследования достаточно отражены в рецензируемых научных журналах, представлены и обсуждены на научных форумах различного уровня.

В целом работа заслуживает положительной оценки. Однако в качестве замечаний можно отметить ряд неудачных выражений, опечатки и отдельные ошибки в тексте и в таблицах. Основная концепция работы, положения, выносимые на защиту, а также полученные фактические данные не вызывают принципиальных возражений. При этом в порядке дискуссии хотелось уточнить некоторые вопросы:

1. При изучении обмена коллагена у животных разного возраста Вы установили, что общее содержание коллагена в коже крыс зрелого возраста отличается от молодых незначительно, а его нейтральнорастворимая и цитратрастворимая фракции снижаются. О чём это свидетельствует?

2. Дисбаланс окислительных процессов является одним из ведущих метаболических механизмов возрастных изменений. Какое влияние на эти процессы в коже может оказать внутридермальное введение коллагенсодержащего препарата?

3. В разделе «Заключение» и пятом выводе работы Вы упоминаете макрофагальные клетки. Какую роль они могут играть в механизмах активации метаболических и пролиферативных процессов в коже при внутридермальном введении коллагенсодержащего препарата?

4. Какие Вы видите перспективы дальнейших исследований коллагенсодержащих препаратов? Получили ли Вы разрешение на клинические испытания исследуемого препарата?

Заключение

Диссертация Сельской Бэлы Натановны на тему: «Метаболизм коллагена и гликозаминогликанов в коже экспериментальных животных при интрадермальном введении коллагенсодержащего инъекционного препарата» является законченной научно-квалификационной работой и содержит решение актуальной научной задачи о характеристике механизмов действия препаратов немодифицированного коллагена на метаболические процессы в коже, имеющей существенное значение для медицины и биохимии. Диссертационная работа соответствует всем критериям, установленным п.9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор Сельская Бэла Натановна заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Заведующий кафедрой фундаментальной и
клинической биохимии федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего образования
«Кубанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук (03.01.04 - биохимия),
профессор

Быков Илья Михайлович



350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4, тел.: (861)2680230;
e-mail: Ilya.bh@mail.ru