

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Галеевой Айгуль Гафуровны на тему: «Локальные изменения метаболизма кожи при внутридермальном введении нестабилизированной гиалуроновой кислоты в эксперименте», представленную к защите в Диссертационный совет Д 208.084.05 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04. – Биохимия.

Актуальность избранной темы.

Исследование метаболических процессов в организме человека в процессе старения является актуальным направлением в изучении фундаментальных основ жизнедеятельности и последующей коррекции возрастных изменений.

Безусловно, старение организма и возрастные изменения тканей и органов, в том числе кожи – закономерный процесс, характеризующийся постоянным развитием, прогрессирующим течением, зависящий от особенностей генотипа и затрагивающий все уровни биологической организации.

Известно, что при старении кожи происходит уменьшение продукции структурных компонентов внеклеточного матрикса, активация катаболизма, усиливается протеолитическая деградация коллагеновых белков, снижается продукция тканевых ингибиторов матричных металлопротеиназ. При этом происходят не только количественные, но и качественные возрастные изменения, в первую очередь со стороны белков и углеводсодержащих биополимеров соединительной ткани.

Среди разнообразных воздействий на кожу для её омоложения, как в косметологии, так и эстетической медицине широкое применение находят нехирургические подходы, в том числе многочисленные инъекционные методы. Алгоритм коррекционных подходов диктуется предсказуемостью эффекта, патогенетической обоснованностью, удобством использования. При этом, эффект применения инъекционных препаратов должен быть направлен

на создание физиологических и биохимических условий для повышения метаболической активности клеток кожи.

В диссертационной работе А.Г. Галеевой проведено экспериментальное исследование на крысах с целью изучения изменений метаболизма в коже животных зрелого возраста в области внутридермального введения препаратов гиалуроновой кислоты, изучены молекулярные механизмы данных изменений, обоснованы биохимические критерии коррекции возрастных изменений.

Таким образом, тема диссертационного исследования Галеевой Айгуль Гафуровны безусловно актуальна для выяснения биохимических механизмов возрастных изменений в метаболизме кожи, возможных способов коррекции нарушенного обмена и является одной из важных задач медицины и биохимии.

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

Для реализации целей исследования, состоящей в изучении изменений метаболизма кожи экспериментальных животных зрелого возраста в области внутрикожного введения препаратов гиалуроновой кислоты автором были поставлены, а затем и решены ряд научных задач.

Работа является самостоятельным научным исследованием, проведенным на адекватном доказательном уровне. Объем научных исследований вполне достаточен. Проведено экспериментальное исследование на 60 взрослых беспородных лабораторных крысах-самках и 30 животных молодого возраста, использованы классические и современные биохимические методы в том числе, исследования на автоматическом биохимическом анализаторе, спектрофотометре, твердофазном иммуноферментном анализаторе, а также применены гистологические и иммуногистохимические методы исследования. Полученные данные статистически обработаны с использованием пакета прикладных программ (методом вариационной и непараметрической статистики).

По итогам диссертационной работы сформулировано 5 выводов, которые соответствуют материалам исследования и отражают поставленные задачи. Кроме того, автором обоснованы практические рекомендации.

Таким образом, объем материала, современные методы биохимических и гистологических исследований и проведенный статистический анализ не

позволяют усомниться в обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в данной диссертационной работе.

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

Дизайн исследования, тщательный анализ и статистическая обработка данных не вызывает сомнений в достоверности полученных результатов, на основании которых были сформулированы выводы и практические рекомендации. Результаты экспериментальных исследований позволили автору изучить метаболические изменения в коже крыс зрелого возраста в области внутридермального введения нативной высокомолекулярной гиалуроновой кислоты, а также показать корригирующий эффект вводимого препарата на измененный обмен веществ в коже. Новизна исследования подтверждена патентом на изобретение Российской Федерации № 257168 от 25.11.2015 г. «Способы омоложения лица у пациентов с анатомо-физиологическими особенностями лицевой части черепа» и патентом промышленный образец № 101551 от 27.12.2016 г. «Схема алгоритма коррекции возрастных изменений верхней трети лица».

Содержащиеся в работе данные получены лично автором или при его непосредственном участии на всех этапах выполняемой работы: постановка цели и задач, выбор методов исследования, проведение экспериментов, статистическая обработка, оценка и анализ полученных результатов, написание статей, оформление диссертации.

Основные положения и результаты исследования были доложены и обсуждены на региональных, российских и международных научных форумах. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 7 в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Проведенное исследование позволило существенно пополнить знания об изменениях метаболизма в коже крыс различного возраста. Показано, что введение препарата гиалуроновой кислоты характеризуется усилением анаэробного окисления углеводов в коже с мобилизацией гликогена в течение первой недели после начала введения гиалуронана; в более поздние сроки преобладает интенсификация метаболизма с активацией гексозомонофосфатного и гексозодифосфатного путей окисления. Кроме того,

с использованием биохимических и гистохимических методов исследования выявлена выраженность и динамика сдвигов в содержании основных биополимеров внеклеточного матрикса дермы: коллагена, его фракций и суммарных гликозаминогликанов. Автором доказано, что внутридермальное введение препарата гиалуроновой кислоты проявляет выраженное антиоксидантное действие, препятствуя активации в коже процессов липопероксидации и карбонилирования белков. Показано усиление регенеративных процессов с пролиферацией клеточных элементов кожи и повышение биосинтетической активности фибробластов в ответ на внутрикожное введение гиалуронана. Установлено, что при внутридермальном введении препарата гиалуроновой кислоты в коже экспериментальных животных в течение первой недели наблюдаются признаки асептической воспалительной реакции, в сыворотке крови повышаются провоспалительные цитокины, а также фактор некроза опухоли. В более поздние сроки в крови отмечается интенсификация продукции цитокинов как провоспалительного, так и противовоспалительного характера действия.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Результаты проведенных исследований экспериментально подтверждают необходимость разработки определенных схем применения препаратов гиалуроновой кислоты в коже, подверженной возрастным изменениям. Новые сведения об изменениях метаболизма в коже при введении гиалуронана могут быть внедрены в образовательные программы подготовки обучающихся медицинских вузов, а также использоваться в работе специализированных, в том числе косметологических, учреждений медицинского профиля.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности.

Диссертация изложена на 173 страницах машинописного текста, содержит 12 таблиц, 38 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, главы описания материалов и методов исследования, главы результатов исследования, заключения, заключения, выводов и списка литературы, включающих 275 источников, из которых 112 – отечественных, 163 – иностранных.

Во введении автор обосновывает выбор темы, ее актуальность, цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, новизну, а также апробацию результатов исследования.

Первая глава – обзор литературы изложен на 29 страницах, в котором подробно представлен анализ работ по изучению биохимических, молекулярно-биологических механизмов старения кожи, особенностей структуры, физико-химических свойств, обмена и физиологических функций препаратов гиалуроновой кислоты. Обзор написан достаточно полно, тщательно выверен. Последние литературные источники датированы 2017 годом.

Во второй главе «Материал и методы исследования» автором подробно описаны биохимические, гистологические и иммуногистохимические методики исследования биологического материала, представлен дизайн исследования. Основная часть методик - биохимические методы исследования, кроме того, представлены статистические методы исследования, которые включают как параметрические, так и непараметрические методы. Комплекс применённых лабораторных и инструментальных методов исследований современен и информативен.

Третья глава «Результаты собственных исследований» состоит из 6 подглав и посвящена характеристике биохимических констант, в том числе провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, состоянию углеводного обмена, интенсивности липопероксидации, уровня карбонилирования белков, содержанию коллагена и его фракций в коже при интрадермальном введении препарата гиалуроновой кислоты.

Представлена характеристика изменений гистологической структуры кожи экспериментальных животных в области введения гиалуроновой кислоты. Результаты иммуногистохимических исследований с применением моноклональных антител показали, что внутридермальное введение крысам зрелого возраста гиалуронана усиливает пролиферацию клеток эпителия кожи, фибробластов, эндотелиальных клеток стенки кровеносных сосудов, эпителиальных клеток волосяных фолликул. В целом, результаты проведенных гистологических исследований показали, что препарат гиалуроновой кислоты обладает биосовместимостью и не вызывает выраженных воспалительных процессов в коже.

В главе «Заключение» А.Г. Галева подробно обсуждает полученные результаты, анализирует данные проведенных исследований, раскрывает возможные биохимические механизмы изменений метаболизма в стареющей коже и доказывает положительный эффект введения гиалуронана на измененный обмен веществ в коже.

Выводы отражают основные результаты диссертационного исследования. Все они конкретны, объективны, соответствуют поставленным задачам, отражают суть и результаты работы, подтверждаются представленным материалом. Практические рекомендации вытекают из собственных исследований автора, могут быть использованы в работе специализированных лабораторий.

Содержание автореферата отражает основные положения работы.

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

Структура и содержание работы свидетельствуют о самостоятельно выполненном научном исследовании, в котором получены новые сведения об изменениях метаболических процессов в коже зрелых крыс, изучены молекулярные механизмы данных изменений, а также обоснованы биохимические критерии коррекции возрастных изменений с помощью препарата гиалуроновой кислоты. Результаты диссертационного исследования отражены в 11 публикациях, из них 7 работ опубликовано в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации, получено 2 патента на изобретение и промышленный образец. Материалы диссертационной работы представлены и обсуждены на научных форумах различного уровня.

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

В качестве замечаний можно отметить следующее:

Замечания:

1. В работе встречаются отдельные ошибки, опечатки, неудачные выражения.
2. Одни и те же термины обозначаются по разному, например: гидроксипролин – оксипролин.
3. Ни в диссертации, ни в автореферате нет описания техники мезотерапии, хотя, автор неоднократно упоминает этот термин.
4. Используются различные единицы выражения одних и тех же показателей. Так на странице 68 диссертации (таблица 10) содержание коллагена выражено в ммоль/г сухой массы, а на странице 69-70 (таблица 11) – в ммоль оксипролина на 1 кг сухой массы.

5. Список используемой литературы содержит недостаточное количество источников за последние 5 лет.

Указанные замечания не умаляют значимость работы.

В плане продолжения научной дискуссии хотелось бы поставить ряд вопросов перед соискателем:

1. В диссертации Вы используете термины: гиалуроновая кислота, частично стабилизированная гиалуроновая кислота, нестабилизированная гиалуроновая кислота, нативная гиалуроновая кислота, немодифицированная гиалуроновая кислота, гиалуронан, нативный высокомолекулярный гиалуронан. Это обозначения одного и того же биополимера или имеются различия? Если имеются то в чем?
2. Вы изучали в сыворотке крови 13 показателей. Какой объем сыворотки крови требовался для этих исследований?
3. Известно, что в работах Л.И. Слуцкого, П.Н. Шараева и других авторов показано, что существует 4 фракции коллагена: щелочнорастворимый, нейтральносолеорастворимый, цитраторастворимый и нерастворимый. Почему Вы в коже определяли только уровень нейтральносолеорастворимого коллагена и о чем свидетельствуют количественные изменения этой фракции изучаемого белка?
4. На странице 69-70 диссертации (таблица 11) по Вашим данным уровень свободного гидроксипролина у интактных животных в коже составляет 423 ммоль оксипролина/ кг сухой массы, в то же время у контрольных животных – 25 ммоль оксипролина/ кг сухой массы. Разница в 17 раз. Чем можно это объяснить?
5. Известно, что белки соединительной ткани, в том числе коллаген, одни из самых медленнообновляемых и с возрастом больше подвержены процессам свободнорадикального окисления. С учетом вышесказанного, что по-Вашему первично в проведенных исследованиях: перекисное окисление липидов или окислительная модификация белков и на какое звено свободнорадикального окисления действует вводимый в кожу препарат гиалуроновой кислоты?

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней

Таким образом, диссертационная работа Галеевой Айгуль Гафуровны на тему «Локальные изменения метаболизма кожи при внутридермальном введении нестабилизированной высокомолекулярной гиалуроновой кислоты в эксперименте» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором экспериментальных исследований выявлены изменения в обменных процессах в коже у крыс зрелого возраста, изучены молекулярные механизмы корригирующего действия препаратов гиалуроновой кислоты для активации метаболических процессов в коже, разработаны теоретические и практические рекомендации, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, имеющее важное значение для медицины, а именно биохимии, изучающей метаболические сдвиги при старении организма. По актуальности, новизне и практической значимости диссертация Галеевой Айгуль Гафуровны полностью соответствует критериям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями от 21.04.2016 № 335), а её автор Галеева Айгуль Гафуровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Официальный оппонент:

Бутолин Евгений Германович

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой клинической биохимии
и лабораторной диагностики факультета
повышения квалификации и профессиональной
переподготовки. ФГБОУ ВО «Ижевская
государственная медицинская академия» Минздрава России
426034, Удмуртская Республика, г. Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281
Телефон 8 (3412) 52-62-01
e-mail: rector@igma.udm.ru

Подпись д.м.н., профессора Е.Г. Бутолина заверяю:

Начальник отдела кадров

24.12.2017



С.П. Овечкина