

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Дубовой Татьяны Клеониковны на диссертационную работу Пустовой Кристины Николаевны «Морфофункциональные изменения элементов барьера кожи человека при наличии признаков местной тканевой реакции организма, ассоциированной с клещами рода *Demodex*», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки).

Актуальность избранной темы

Актуальность темы диссертации Пустовой Кристины Николаевны «Морфофункциональные изменения элементов барьера кожи человека при наличии признаков местной тканевой реакции организма, ассоциированной с клещами рода *Demodex*» не вызывает сомнений, поскольку вопрос влияния клещей рода *Demodex* на кожу человека обсуждается уже более 150 лет. Особи *Demodex* представляют собой условно-патогенные организмы, которые в норме локализуются в волосяных фолликулах и сальных железах, и питаются роговыми чешуйками и кожным салом. В научных работах эти организмы часто выступают в роли факторов, ухудшающих состояние кожи и плохо поддающихся терапии. В связи с этим определение морфофункциональных изменений кожи человека под влиянием клещей *Demodex spp.* и понимание необходимости разработки терапии в рамках персонализированной терапии является актуальной задачей. Выбор структурных компонентов кожи (волосяные фолликулы и сальные железы) для исследования в этом направлении продиктован местами локализации особей в норме. Сально-волосяной комплекс и окружающая его соединительная ткань с гемокапиллярами также являются компонентами барьера кожи. Таким образом всестороннее изучение морфофункциональных изменений элементов барьера кожи под влиянием клещей рода *Demodex* в сравнительном аспекте, а также исследование особенностей строения и

жизнедеятельности самих особей, как биологических факторов, является актуальным для медицинской науки и практики.

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

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций исследования подтверждается достаточным числом обследуемых людей и полученного материала, рассчитанным при планировании исследования, а также валидированных методик, которые соответствуют поставленным цели и задачам работы. Методология исследования основана на сочетании различных методик для наиболее полного изучения задачи, а именно использование 3 методов окрашивания гистологических препаратов, иммуногистохимии, морфометрического анализа, сканирующей электронной микроскопии, полимеразной цепной реакции, лабораторных и статистических методов. Сформулированные в диссертации научные положения, выводы и рекомендации основаны на фактических данных, корректно проанализированных с использованием адекватным методов статистического анализа и представленных в таблицах и графиках. Все вышеперечисленное делает степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций диссертационного исследования К.Н. Пустовой достаточно высокой.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность данных подтверждается применением современных методов исследования, в полной мере соответствующих поставленным задачам, наличием контрольной и сравнительной групп, большим объемом изучаемого материала (135 людей, 810 гистологических препаратов и прочее) и проведенным статистическим анализом. Материалы опубликованы в рецензируемых научных изданиях и представлены на международных и всероссийских конференциях.

Данные, полученные в рамках диссертационного исследования, расширяют немногочисленные сведения о нормальном морфологическом строении некоторых структур кожи с точки зрения осуществления барьерно-защитной функции, а также об изменениях этих компонентов под влиянием клещей рода *Demodex*, как повреждающего фактора. В ходе исследования проанализированы и описаны морфологические критерии повреждения элементов барьера кожи человека в качестве прогностических критериев нарушения барьерно-защитной функции с развитием тканевой реакции кожи. Внимание заслуживает представленное автором вовлечение системы Т-клеточного иммунитета при повреждении барьера кожи человека и сравнение показателей в трех группах обследуемых. Создана 3D-модель гистогематического барьера кожи, для определения локализации клещей рода *Demodex* и уровень распространения тканевой реакции при повреждении компонентов барьера. Разработан способ сохранения жизнеспособности клещей рода *Demodex* spp. на основании оценки их двигательной активности с помощью создания оптимальных условий внешней среды: температура (от +20°C до +25°C), отсутствия световых и химических раздражителей, нормального уровня кислорода в воздухе (около 21%) и наличия питательной среды. Исследование несомненно имеет научную новизну, так как выполнено на стыке специальностей, автор объединяет морфологические данные с практическим выходом для клинической практики.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Обоснована эффективность использования морфофункциональных критериев повреждения элементов барьера кожи человека клещами рода *Demodex* для прогноза возникновения и оценки степени тяжести его повреждения и распространения тканевой реакции кожи. В качестве прогностических критериев структурного и функционального нарушения элементов барьера предложены: дезорганизация базальных мембран структур

сально-волосяного комплекса; деструкция себоцитов и кератиноцитов; наличие фиброза в элементах сально-волосяного комплекса; нарушение целостности стенки гемакапилляров; наличие полиморфноядерных инфильтратов в компонентах барьера; истончение коллагеновых волокон дермы. Разработанная 3D-модель барьера кожи человека может служить макетом для демонстрации этих критериев и углубленного изучения механизмов адаптации барьерной функции кожи у человека к возможным внешним и внутренним повреждающим факторам. Практическая значимость этих характеристик заключается в возможности использования в ходе разработок новых лекарственных препаратов, для восстановления барьерно-защитной функции кожи и устранения клещей рода *Demodex*.

Разработанный способ сохранения жизнеспособности и показатели выживаемости клещей рода *Demodex* совместно могут быть использованы для дальнейших экспериментальных исследований в этой области, например, выявления их антигенов, создания специфической окраски, а также поиска веществ, оказывающих на них губительное влияние.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Основные научные положения диссертации соответствуют пунктам 1. «Изучение строения клеток и тканей и общих закономерностей генеза, ультраструктурной организации и функции клеток эукариот, в том числе в составе тканей и органов»; 10. «Изучение закономерностей цито - и гистогенеза, клеточной дифференцировки, физиологической и репаративной регенерации тканей, а также, регуляции этих процессов»; 13. «Изучение молекулярных, иммунологических, цитохимических и физиологических аспектов жизненного цикла клеток при экспериментальных (в том числе повреждающих) воздействиях. Изучение пролиферации клеток, старения и клеточной гибели»; 14. «Исследование адаптации клеток и тканей к действию различных факторов внешней среды»; 19. «Клеточные технологии как основа для разработки терапевтических подходов для лечения различных

патологий. Создание клеточных моделей различных заболеваний, в том числе наследственных»; 22. «Разработка и применение новых экспериментальных моделей и методов гистотехнологии, культивирования клеток, цитологической диагностики, иммуноцитохимии, микроскопии, компьютерной морфометрии, цифрового анализа изображений, методов молекулярно-генетического анализа индивидуальных клеток, а также других методов, необходимых для проведения исследований в области клеточной биологии» паспорта специальности 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки).

Полнота освещения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах из Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных

По результатам диссертационного исследования К.Н. Пустовой опубликовано 25 печатных работ: 3 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, 3 научные статьи в журналах, индексируемых международными системами цитирования Scopus и Web of Science, 10 иных публикаций и 7 публикаций в сборниках материалов всероссийских и международных конференций. Получено 2 патента Российской Федерации на изобретение.

Структура и содержание диссертации

Диссертация объемом 108 страниц написана по классическому типу, содержит разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты исследований», «Обсуждение полученных результатов», а также заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, библиографический список и приложения.

Диссертация проиллюстрирована 34 рисунками (30 – в тексте диссертации, 4 – в приложениях) и 7 таблицами. Список литературы включает в себя 120 источников, из них 64 на английском языке и 56 – на русском.

Во введении автор объясняет актуальность выбранной темы, приводит данные о степени ее разработанности, формулирует цели и задачи работы, а также положения, выносимые на защиту, раскрывает научную новизну и научно-практическую значимость полученных результатов, описывает методологию и методы исследования, сообщает сведения о личном вкладе в работу и публикациях по ее материалам, а также о внедрении результатов исследования.

Обзор литературы написан на 22 страницах. В нем приведена информация о структурных компонентах барьера кожи человека, влиянии на них внешних и внутренних факторов, последствия повреждения барьерных структур в виде развития местных тканевых реакций и изменений в иммунной системе. Далее автор уделяет внимание особенностям строения и локализации особей *Demodex spp.*, которые могут быть фактором травматизации структур барьера, нарушая его целостность, а также параметры ответной реакции со стороны иммунной системы человека. Имеются некоторые данные об условиях внешней среды, способствующих сохранению жизнедеятельности *Demodex spp.* Обзор достаточно компактный, но при этом содержательный, изложение свидетельствует об уверенной ориентации автора в изучаемой теме.

В главе «Материалы и методы» приведены сведения о количестве добровольцев, имеются все необходимые критерии включения, исключения и распределения в группы добровольцев, в отдельных пунктах дана общая схема обследования и использованные в работе методические подходы, включающие морфологические, лабораторные, иммуногистохимические, культивирование материалов соскобов, а также методы статистической обработки количественных данных.

Глава «Результаты и обсуждение» тщательно структурирована и снабжена большим количеством высококачественных микрофотографий, таблиц и графиков. Прежде всего, автор проводит сравнительный морфологический анализ состояния некоторых структур компонентов барьера кожи человека в норме (при отсутствии повреждения у обследуемых в возрасте 18–44 лет) и при наличии местных тканевых реакций, не ассоциированных с особями *Demodex spp.* (у добровольцев в возрасте 45–75 лет). Заслуживает внимания морфофункциональный анализ нарушений структур барьера кожи человека при наличии местной тканевой реакции, ассоциированной с клещами рода *Demodex* в аналогичной возрастной группе (45–75 лет). Возрастные критерии разделения обследуемых по группам выбраны согласно современной классификации ВОЗ. На гистологических препаратах выявлены деструктивные изменения эпителиальной и соединительной тканей, дезорганизация базальных мембран и прочие. В частности, снижение плотности распределения и толщины коллагеновых волокон, возникновение полиморфноядерных инфильтраций и последующий фиброз в сальных железах, а также появление «капсул» с клещами рода *Demodex*. Морфометрическому анализу подвергаются такие параметры, как количество иммунокомпетентных клеток, эритроцитов вне сосудов, деструктивно измененных кератиноцитов, степень фиброза в сальных железах, толщина коллагеновых волокон и слоев эпидермиса, оценивается выраженность пролиферативных процессов в эпидермисе и сальных железах. Выявленные изменения в структурах, входящих в состав барьера кожи, локализуются вблизи мест обитания особей *Demodex*. Для полноценного комплексного изучения поставленных цели и задач автор проанализировал особенности ультрамикроскопического строения клещей для обоснования возможности механического повреждения кожи ротовым аппаратом и конечностями паразита, а с помощью ПЦР анализа подтвердил, что клещи рода *Demodex* являются переносчиками бактерий, обитающих внутри и на их поверхности. Были установлены условия внешней среды для сохранения

жизнеспособности клещей *Demodex in vitro*. В исследовании показаны также достоверные изменения иммунологических показателей Т-клеточной системы у добровольцев старшей возрастной группы при наличии клещей рода *Demodex* в сравнении с двумя другими группами.

На основании полученных результатов автор приходит к заключению, что барьер кожи человека характеризуется целостностью таких компонентов как, сально-волосяной комплекс, рыхлая волокнистая соединительная ткань дермы и стенка кровеносного капилляра. Данные морфологических, морфометрических, иммуногистохимических, микробиологических и лабораторных анализов, подтверждают деструктивное влияние местной тканевой реакции, ассоциированной с клещами рода *Demodex* на компоненты барьера.

В главе «Обсуждение» и в общем заключении к диссертации К.Н. Пустовая обобщает полученные в исследовании данные, анализирует их, опираясь на имеющиеся в литературе сведения, и выдвигает гипотезы о причинах обнаруженных изменений и возможных последствиях воздействия возрастных изменений в коже, а также различных внешних и внутренних факторов, способных вызвать ответную тканевую реакцию в компонентах барьера кожи человека. Работа содержит заключение и пять выводов, которые закономерно вытекают из поставленных цели, задач и положений, выносимых на защиту и в полной мере обоснованы результатами исследования.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат включает в себя все необходимые разделы, соответствует содержанию диссертации, адекватно отражает логику проведенного исследования и дает достаточно полное представление о выполненной работе, полученных результатах и выводах.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Достоинством оппонируемой диссертационной работы является комплексное изучение поставленной цели, что соответствует традиционным подходам фундаментальной науки. Каждая ее смысловая часть, включая обзор литературы и каждый раздел главы «Результаты исследования», завершается кратким заключением, что значительно облегчает восприятие материала и подчеркивает стройную и ясную структуру работы. Автор уверенно владеет описанными приемами исследования, лично проводил и анализировал полученные результаты. Принципиальных замечаний по содержанию работы К.Н. Пустовой нет, но есть пожелания, на которые хотелось услышать мнение автора. В целом, положительно характеризуя работу, нельзя не отметить, что использованный метод сканирующей электронной микроскопии хотелось бы расширить и применить, например, для подтверждения нарушения целостности или разрушения базальных мембран эпителиальных структур. Работу украсила бы идентификация клеток полиморфноядерных инфильтратов с помощью иммуногистохимического анализа. Перечисленные замечания носят рекомендательный характер и не уменьшают достоинства работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа К.Н. Пустовой на тему: «Морфофункциональные изменения элементов барьера кожи человека при наличии признаков местной тканевой реакции организма, ассоциированной с клещами рода *Demodex*», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи по изучению морфофункциональных изменений барьера кожи человека, в условиях воздействия повреждающих биологических факторов – клещей рода *Demodex*, имеющей существенное значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии, что соответствует требованиям п. 16 Положения о

присуждении ученых степеней в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 г. (с изменениями, утвержденными приказом ректора №1179 от 29.08.2023 г., приказом Сеченовского Университета № 0787/Р от 24 мая 2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Пустовая Кристина Николаевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности - 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки).

Официальный оппонент – доктор медицинских наук
(по специальности 1.5.22. Клеточная биология (14.00.23)), профессор,
профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии
ИБПЧ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России



Дубовая Татьяна Клеониковна

Подпись д.м.н., профессора Дубовой Т.К. заверяю:

Ученый секретарь ФГАОУ ВО РНИМУ
им. Н.И. Пирогова Минздрава России,
к.м.н., доцент



Демина Ольга Михайловна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1. стр. 6.
Телефон: +7 (495) 434-03-29
E-mail: rsmu@rsmu.ru