

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, доцента Шестаковой Валерии Геннадьевны 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*» очевидна и не вызывает сомнений. В настоящее время количество кожных заболеваний и пограничных состояний резистентных к существующей терапии растет. Кроме того, наблюдается увеличение числа факторов, которые могут вызывать структурно-функциональные нарушения в коже человека. Одним из таких факторов являются клещи рода *Demodex*. Эти организмы в норме обитают в волосяных фолликулах и сальных железах человека и питаются роговыми чешуйками и кожным салом. Особи *Demodex* играют роль в защите кожи от бактерий (стафилококки, стрептококки), а также участвуют в регуляции pH (выделяют ферменты, которые способствуют образованию свободных жирных кислот из триглицеридов кожного сала). Тем не менее в научных работах появляется все больше информации о негативном влиянии клещей на кожу человека, особенно в возрастном аспекте. В связи с этим актуальной задачей является разработка лекарственных препаратов, направленных непосредственно на снижение количества особей *Demodex spp.* и восстановление нормального строения и организации кожи человека. Для успешного решения этой задачи необходимо не только тщательно изучить характеристики строения и жизнеспособности самих клещей, но и особенности их влияния на структуры компонентов кожи, в которых они локализуются. Этими структурами являются элементы барьера кожи человека. В диссертационной работе К.Н. Пустовой это было успешно отражено. Важным дополнением является наличие групп сравнения, в которых проведен анализ аналогичных элементов барьера кожи человека, но без влияния особей *Demodex spp.*

Таким образом, работа К.Н. Пустовой, призванная восполнить и дополнить имеющиеся пробелы в анализе и оценке компонентов барьера кожи, а также последствиях повреждения этих элементов клещами рода *Demodex*, имеет несомненную научную и практическую значимость.

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

Автор демонстрирует глубокое понимание изучаемой проблемы, четко и обоснованно формулируя цель и задачи исследования. Исследование является комплексным, выполнено на высоком теоретическом и методическом уровнях. Для обоснования цели и методологии исследования и интерпретации полученных результатов использован большой объем литературных данных, подвергнутых критическому анализу. Удачным был выбор экспериментальной биологической модели, достаточный объем проанализированного материала, а также сочетания морфологических, иммуногистохимических, иммунологических, морфометрических и прочих методов анализа полученных результатов. Выявленные в работе количественные данные корректно

обработаны параметрическими и непараметрическими методами статистики. Автор дополнил работу высококачественными микрофотографиями, схемами и таблицами, подтверждающими достоверность положений, выносимых на защиту. Материалы диссертации опубликованы в рецензируемых научных изданиях и представлены на всероссийских и международных конференциях, получены патенты на изобретение и полезную модель. Все вышеперечисленное делает степень обоснованности научных положений и выводов диссертационного исследования Пустовой Кристины Николаевны достаточно высокой.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Впервые проанализированы и описаны сравнительные морфологические изменений структур барьера кожи в аналогичных возрастных группах, с учетом наличия или отсутствия клещей рода *Demodex*. Также проведена сравнительная характеристика этих изменений с более молодой возрастной группой (с учетом классификации по возрасту ВОЗ). На основании полученных данных проведен морфометрический анализ некоторых структур барьера кожи человека: количество полиморфноядерных клеток, Ki67-позитивных клеток, эритроцитов вне сосудов, а также толщина коллагеновых волокон, слоев эпидермиса и прочие. В то же время получена морфометрия структур особей *Demodex spp.* и сравнение их с размером пушкового волоса человека. Следуя далее тенденции распространения местной тканевой реакции за пределы сально-волосяного комплекса, автором проведен анализ иммунологических показателей Т-клеточного иммунитета и их связь с морфологическими изменениями в каждой группе. Особого внимания заслуживают разработанная полезная модель компонентов гистогематического барьера кожи человека и способ сохранения жизнеспособности клещей рода *Demodex*, которые позволили осуществить и обосновать полученные результаты. Новизна исследования К.Н. Пустовой подтверждается охраноспособными документами (патентами).

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

В ходе диссертационного исследования К.Н. Пустовая выделила морфологические критерии повреждения барьера кожи человека клещами рода *Demodex*, которые могут использоваться в ходе экспериментальных научных работ для оценки тяжести повреждения его структур и возможного нарушения функций. Также, эти критерии могут найти применение в ходе разработок новых лекарственных препаратов, для восстановления барьерно-защитной функции кожи и элиминации клещей рода *Demodex* в рамках персонализированной медицины. Разработанная 3D-модель барьера кожи человека может служить моделью для демонстрации этих критериев и углубленного изучения механизмов осуществления барьерной функции кожи у человека.

Разработанный способ сохранения жизнеспособности и критерии оценки выживаемости клещей рода *Demodex* совместно могут быть использованы для дальнейших экспериментальных исследований в этой области, например, культивирования этих организмов и подбор лекарственных препаратов, приводящих к их гибели.

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

Материалы диссертационного исследования отражены в научных работах, опубликованных в рецензируемых журналах, альманахах и сборниках материалов конференций. Всего по теме диссертации опубликовано 25 печатных работ, включая 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, также 3 научные статьи в журналах, индексируемых международными системами цитирования Scopus и Web of Science, 10 иных публикаций и 7 материалов 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 зарубежных автора и 56 – отечественных.

В «Обзоре литературы» автор уделяет внимание публикациям о морфологическом строении и клеточном составе компонентов барьера кожи человека, а также механизмах осуществления этими компонентами защитно-барьерной функции кожи. После этого автор описывает также общую иммунную функцию этих элементов и их способность влиять на целостность и проницаемость барьера, а также реагировать на различные факторы внешней и внутренней среды. Далее подробно описаны особенности строения и жизнедеятельности клещей рода *Demodex* и возможности их влияния на морфологическое состояние элементов барьера кожи человека, рассмотренных выше. Дополнительный раздел обзора литературы посвящен влиянию особей *Demodex* на общую иммунную систему человека. По данным различных литературных источников отмечено снижение показателей клеточного иммунитета, активация его гуморального звена. Важно отметить, что в заключении

диссертант логически объединяет рассмотренные литературные данные и говорит о необходимости их комплексной оценки.

В главе «Материалы и методы» дается подробное обоснование выбора групп обследуемых, соблюдение стандартных условий методики взятия материала, описывается оборудование для исследований и способы оценки полученных результатов. Морфометрия на полученных срезах ограничивалась подсчетом количества полиморфноядерных клеток, эритроцитов вне сосудов, вакуолизированных кератиноцитов, коэффициента фиброобразования и эпидермиса, а также сравнительной морфометрией структур особей *Demodex folliculorum* и *Demodex brevis* и их сравнением с толщиной пушкового волоса человека.

В главе «Результаты исследований» представлены количественные данные обследуемых трех групп вышеперечисленных параметров морфометрии. Интерес вызывает раздел, посвященный морфологическому анализу элементов барьера кожи человека при наличии клещей рода *Demodex*: нарушение целостности структур сально-волосяного комплекса и прилежащих к нему гемокапилляров, появление полиморфноядерных инфильтратов, дезорганизация базальных мембран, гипертрофические процессы эпидермиса и сальных желез, развитие фиброза в местах жизнедеятельности клещей, а также образование «капсул» с особями *Demodex*. В результате исследования автор делает заключение о вариантах развития адаптивных изменений компонентов барьера кожи, будь то местная тканевая реакция в присутствии клещей, либо ее отсутствие и появление «капсул» с участками фиброза. Преимуществом раздела является сравнительный анализ исследуемой группы с аналогичной возрастной группой, но без клещей, а также с группой обследуемых без проявлений местной тканевой реакции кожи. Для подтверждения гипотезы адаптации барьера кожи, автор проводил иммуногистохимическое исследование наличия Ki67-позитивных клеток, которые являются маркерами пролиферативных процессов. Достоверное выявление большего числа Ki67-позитивных клеток в третьей группе подтвердило гипотезу.

Анализ показателей клеточного иммунитета у обследуемых с признаками местной тканевой реакции при наличии клещей рода *Demodex* выявил достоверное снижение в сравнении с группой обследуемых без признаков повреждения элементов барьера. А сравнение с аналогичной возрастной группой, но без клещей позволило сделать вывод, что особи *Demodex* являются фактором, усугубляющим течение местной тканевой реакции и повреждение барьера кожи.

Ультраструктурное изучение особенностей строения клещей *Demodex* подробно рассмотрен автором. Этот раздел сопровождается высококачественными фотографиями и разработанным способом сохранения жизнеспособности клещей.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автор сопоставляет полученные результаты с данными других исследователей. Эта глава является продолжением анализа, который начат в других главах диссертационной работы, акцентирует внимание на наиболее интересных результатах.

«Закключение» и «Выводы» вытекают из полученных результатов и отражают основное содержание работы. Они являются логичными ответами на поставленные цель, задачи исследования и положения, выносимые на защиту.

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

Диссертация К.Н. Пустовой носит характер заверченного научного исследования, отличается логичностью, целостностью и последовательным изложением материала, четкостью и ясностью формулировок цели, задач и положений, выносимых на защиту. Заключение и выводы, сформулированные по итогам диссертационной работы, соответствуют поставленным цели и задачам. Работа хорошо оформлена и содержит большое количество высококачественного иллюстративного материала. Принципиальных замечаний по содержанию работы нет, но есть пожелания, на которые хотелось бы услышать мнение соискателя. В плане научной дискуссии хочется получить ответ на ряд вопросов.

1. На стр. 26 Вы пишете, что клещи рода *Demodex* представители нормальной микробиоты кожи, однако далее описываете их патогенное влияние на состояние кожи, на стр. 68 относите их к условно патогенным, и на 71 странице вновь к нормальным. Уточните, пожалуйста к какой все-таки группе следует отнести данных паразитов?
2. Чем обоснован Ваш выбор методик окрашивания гистологических препаратов и выбор структур, подверженных морфометрическому анализу?
3. Каким образом Вы оценивали толщину коллагеновых волокон и при каком методе окрашивания?
4. Существуют ли особенности кожного барьера у лиц с различным типом кожи?
5. Возможно ли выявление корреляции между результатами показателей Т-клеточного иммунитета, описанием симптомов поражения кожи обследуемых и гистологическими данными?

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,

6