

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор

Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования

«Российский университет медицины»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

д.м.н., профессор

Крихели Н.И.

« 22 »

июля

2024 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации 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 темы выполненной работы

Структурные особенности и механизмы осуществления барьерных функций кожи являются актуальной темой в современной биологии. Различные факторы внешней (УФ-излучение, химические вещества, травматизация и прочие) и внутренней (гормональные и возрастные изменения, наследственность и прочие) среды могут оказывать повреждающие эффекты на кожу. Благодаря нормальному функционированию защитных компонентов кожи в ней поддерживаются определенные физиологические условия. В соответствующей литературе можно найти много работ, посвященных эпидермальному барьеру кожи и факторам, влияющим на него, однако гораздо реже встречаются исследования,

направленные на изучение защитно-барьерных процессов в более глубоких структурах кожи. Практический интерес представляет один из биологических факторов, воздействующий на компоненты барьера кожи — клещи рода *Demodex*. Это условно-патогенные организмы, которые в норме живут в волосяных фолликулах и сальных железах человека, не вызывая ответной иммунной реакции. Особи *Demodex* spp. питаются роговыми чешуйками и кожным салом, участвуют в поддержании нормального pH и микробиома кожи. Однако, эти клещи способны также оказывать повреждающее действие на состояние кожи, вызывая местную тканевую реакцию. Диссертация К.Н. Пустовой посвящена анализу морфофункциональных изменений компонентов барьера кожи человека при наличии местной тканевой реакции, ассоциированной с клещами рода *Demodex*. В литературе имеются работы, посвященные влиянию клещей на кожу, но эти данные представлены как клинические и иммунологические проявления. Определение и оценка морфологических изменений отдельных компонентов барьера различными гистологическими методами позволила диссертанту выявить и описать критерии его повреждения при наличии этих организмов. Исследование дополнено результатами сканирующей электронной микроскопии, иммуногистохимии, полимеразной цепной реакции, а также некоторыми иммунологическими показателями, что существенно обогатило работу. Таким образом, использование элементов системного анализа компонентов барьера кожи человека при влиянии на них клещей рода *Demodex* является актуальным с точки зрения возможной разработки и рационального применения лекарственных препаратов.

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа К.Н. Пустовой, посвященная анализу и оценке морфофункциональных изменений элементов барьера кожи человека при влиянии на него клещей рода *Demodex*, отвечает потребностям клинической

практики и находится в русле современных тенденций развития биомедицинской науки. Результаты исследования, заключение и выводы могут быть полезны при планировании экспериментальных и клинических исследований, посвященных поиску новых лекарственных препаратов в терапии состояний кожи, поврежденной клещами рода *Demodex*. Полученные в ходе выполнения работы новые научные данные могут использоваться в учебном процессе при подготовке студентов медико-биологических специальностей.

Новизна исследования и полученных результатов

Впервые проведено сравнительное комплексное изучение элементов барьера кожи человека в норме, в условиях наличия местной тканевой реакции кожи с клещами рода *Demodex* и без них. Применение разнообразных методических подходов (морфологических, иммуногистохимических, лабораторных) позволило достаточно полно оценить механизмы взаимодействия между компонентами барьера кожи и особями *Demodex spp.* В соответствии с этим были выявлены морфологические критерии повреждения элементов барьера кожи: нарушение целостности базальной мембраны, деструкция себоцитов и кератиноцитов; наличие фиброза в сальных железах; нарушение целостности гемакапилляров; наличие полиморфноядерных инфильтратов в структурах барьера; истончение коллагеновых волокон дермы. Использование этих критериев и анализ показателей Т-клеточной системы иммунитета позволяет определить степень тяжести повреждения кожи человека.

Проведенные морфологические исследования показали точную локализацию особей *Demodex spp.*, а также возможность их инкапсуляции в элементах барьера.

Диссертант детально исследовала глубокие компоненты барьера и на этом основании создала 3D-модель гистогематического барьера кожи

человека. Модель позволяет наглядно оценить локализацию и уровень местных тканевых реакций в коже, вызванных, клещами *Demodex spp.*

Практический интерес в медицине представляет разработанный способ сохранения жизнеспособности клещей *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. Благодаря этому жизнеспособных особей можно использовать для проведения дополнительных исследований, а также для разработки эффективных лекарственных препаратов.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Использование автором диссертации клещей рода *Demodex* не только как экспериментальной биологической модели, оказывающей влияние на структуры барьера кожи человека, говорит о возможной значимости результатов для клинического применения. Полученные результаты отражают комплексные адаптивные изменения отдельных элементов барьера такие как полиморфноядерная инфильтрация, дезорганизация базальных мембран, истончение коллагеновых волокон и прочие.

Практическая значимость работы также не вызывает сомнений. Автором разработана 3D-модель барьера кожи человека, которая может быть использована для разработки и получения новых препаратов и в практике преподавания для объяснения механизмов взаимодействия компонентов барьера с внешними и внутренними факторами.

Практическим значением обладает также разработанный способ сохранения жизнедеятельности клещей *Demodex spp.* для проведения аналогичных экспериментальных исследований. Предложенный автором набор внешних параметров для увеличения продолжительности жизни особей *Demodex spp.* будет полезен для поиска и разработки новых лекарственных препаратов в терапии дерматитов, ассоциированных с клещами *Demodex*.

Личный вклад автора

Автор участвовал в определении задач исследования, планировании и выполнении экспериментальной части исследования, в ходе которой были получены материалы соскобов, панч-биопсии, а также использована сыворотка крови для изучения структуры барьера и ультраструктуры клещей рода *Demodex* методами световой микроскопии, сканирующей электронной микроскопии и другими методами. Автором проведен морфометрический анализ показателей изменения структурных компонентов барьера кожи человека в различных группах и особенностей строения клещей рода *Demodex*, выполнена статистическая обработка полученных данных, проанализированы и обобщены результаты исследования. Автором проведен анализ и отбор отечественной и зарубежной литературы по теме исследования.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Диссертация К.Н. Пустовой является примером грамотного законченного экспериментального исследования. Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации закономерно следуют из их научно-практической значимости. Результаты диссертационной работы К.Н. Пустовой внедрены в учебный процесс кафедры анатомии и гистологии человека Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», в практику лаборатории эктопаразитозов Всероссийского научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии Российской академии наук». С учетом теоретической и

практической значимости результатов, полученных в ходе выполнения диссертационного исследования, и сформулированных на их основе выводов они могут быть рекомендованы к внедрению в практику работы научно-исследовательских лабораторий, занимающихся изучением внешних факторов, в том числе биологических, оказывающих повреждающее действие на структуры барьера кожи, а также поиском лекарственных препаратов в терапии состояний, связанных с дерматитом, ассоциированным с клещами рода *Demodex*. Материалы данной диссертации могут быть включены в учебный процесс биологических и медицинских вузов по таким дисциплинам, как цитология, гистология, дерматовенерология.

Печатные работы по теме диссертации.

Структура и содержание диссертации

Материалы диссертации опубликованы в 25 научных работах: из них: 3 научных статьи в журналах, входящих в перечень ВАК при Минобрнауки Российской Федерации, 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. Все основные результаты, положения и выводы диссертации нашли отражение в опубликованных работах.

Общий объем работы составляет 108 страниц машинописного текста, в ней содержится 34 рисунка (30 – в тексте диссертации, 4 – в приложениях) и 7 таблиц. При написании работы автор придерживался традиционного принципа, в ней имеются разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты исследований», «Обсуждение полученных результатов», а также заключение, выводы, практические рекомендации и приложения. Список литературы содержит 120 работ, из них зарубежных – 64.

Оценивая содержание диссертационной работы, следует отметить, что она представляет собой хорошо продуманное и логично выстроенное

завершенное научное исследование, в котором в полной мере выполнены поставленные задачи, а сделанные выводы базируются на результатах проведенных экспериментов. Представленный автореферат соответствует содержанию диссертации и с достаточной полнотой отражает ее основные положения.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа К.Н. Пустовой посвящена актуальной проблеме биомедицинской науки и имеет важное научно-практическое значение. Она выполнена на высоком научном уровне, грамотно изложена, хорошо проиллюстрирована и производит очень благоприятное впечатление. Материал и методы диссертационной работы адекватны цели и задачам исследования, изложены детально и полно. К.Н. Пустовая продемонстрировала владение традиционными и современными методами исследования в области клеточной биологии – световой микроскопии, компьютерной морфометрии, иммуногистохимии, сканирующей электронной микроскопии, лабораторными и статистическими методами.

Диссертация содержит множество доказательного иллюстративного материала, а также таблиц и графиков, а количественные данные подвергнуты тщательной статистической обработке. В конце каждого раздела результатов исследования автор делает заключение, что облегчает восприятие материала и подчеркивает необходимость проведенных методик для формирования полноценной картины исследования.

Особенно хочется отметить, что работа проведена на человеческом материале, что нивелирует необходимость выполнения дополнительных исследований для внедрения в практику. Исследование выполнено с участием 135 обследуемых, которые были разделены на 3 группы с учетом классификации возрастов по ВОЗ. Количество полученного материала было достаточным и адекватным для анализа и формирования заключения и выводов. Получено 810 препаратов, которые окрашивали гематоксилином и

эозином, ШИК-реактивом или трехцветной окраской по Маллори, а также проводили иммуногистохимическое исследование пролиферации с помощью моноклональных антител к Ki67. Результаты морфометрии убедительно подтверждают данные визуального гистологического и электронно-микроскопического исследования. Лабораторные показатели получены на валидированном оборудовании (например, FACSCalibur и FACSCanto II (BD Biosciences, США) с автоматической подготовкой проб) с использованием референсных значений и контроля.

При выполнении работы К.Н. Пустовая провела глубокий и всесторонний анализ литературы по изучаемой проблеме. Сформулированные выводы и положения достоверны и дополняют опубликованные ранее исследования.

Существенных замечаний по диссертации нет. Мы полагаем, однако, что автору было нужно:

- более аргументировано обосновать достоинства полученных 3D-моделей барьеров кожи;
- представить натуральные (черно-белые) электронно-микроскопические изображения, а уж потом их раскрашивать в псевдоцвета.

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, как адаптивных проявлений 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).

Отзыв на диссертацию К.Н. Пустовой составленный заведующим кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии, д.м.н., профессором, членом-корреспондентом РАН Баниным Виктором Васильевичем, обсужден и одобрен на заседании кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 98 от 02.07.2024 г.).

Заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии
ФГБОУ ВО «Российский университет медицины»

Минздрава России

д.м.н., профессор, член-корр. РАН



В.В. Банин

Подпись д.м.н., профессора, член-корр. РАН – В.В. Банина

«ЗАВЕРЯЮ»

Ученый секретарь ФГБОУ ВО

«Российский университет медицины»

Минздрава России, Заслуженный врач РФ,

д.м.н., профессор



Ю.А. Васюк