

УТВЕРЖДАЮ
Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института эволюционной физиологии и
биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук (ИЭФБ РАН)
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации



М. Л. Фирсов
«30» апреля 2020 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертации Голубцовой Натальи Николаевны на тему: «Регуляторные механизмы развития и старения дермы человека», представленной к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 14.01.30 – геронтология и гериатрия и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертация Голубцовой Натальи Николаевны посвящена одной из наиболее актуальных проблем современной медицины – изучению старения и продления жизни человека, и выполнена на стыке двух наук: геронтологии и клеточной биологии. Механизмы старения достаточно интенсивно изучаются. В результате выявлены многие закономерности, приводящие к появлению признаков старения кожи. Однако, как показывают имеющиеся научные и клинические данные, проблема старения кожи человека остается далекой от разрешения.

С возрастом кожа становится дряблой, растянутой, содержит меньше воды, приобретая практически необратимые признаки старения. Для преодоления этого необходимо знать закономерности, лежащие в основе возрастных изменений. К настоящему времени выявлен ряд таких механизмов. Установлено, что в онтогенезе в дерме снижается количество фибробластов – клеток, ответственных за обновление межклеточного вещества дермы. Для полноценного функционирования, роста и регенерации фибробластов необходимо своевременное поступление питательных веществ и кислорода, а также выведение продуктов обмена, которое обеспечивается

сосудистой системой. Остаются неизвестными взаимосвязи между состоянием сосудистой системы и фибробластами дермы.

Современной наукой доказано, что клетки могут достичь стадии старения путем достижения запрограммированного конечного числа клеточных делений или путем, который запускается стрессорными стимулами. Расшифровка регуляторных механизмов реализации пролиферативных возможностей клеток при физиологическом старении имеет решающее значение. Поэтому исследование внутриклеточных регуляторных путей с участием ламинов и других белков, приводящих к значительному снижению численности и пролиферации фибробластов от рождения до 85 лет, очень актуально.

Поскольку кожа является защитным барьером для всего организма и первой встречает агрессивное воздействие окружающей среды, она тонко чувствует и незамедлительно реагирует на малейший гормональный сигнал организма, особенно в условиях нарушения функций щитовидной железы и всей тиреоидной системы. Тиреоидная патология (гипертиреоз, гипотиреоз) является наиболее частой в структуре эндокринных заболеваний, и за последнее десятилетие отмечается неуклонное увеличение ее распространенности. Возрастные изменения гормонального фона также приводят к изменениям обменных процессов в коже. Таким образом, изучение старения кожи актуально и в аспекте оценки влияния эндокринной системы на процессы старения.

Научная новизна полученных результатов и выводов

В диссертационной работе Н.Н. Голубцовой разработана новая научная концепция о механизме, приводящем к возрастному уменьшению числа фибробластов и кровеносных сосудов в дерме вследствие процессов, происходящих в клеточном ядре при физиологическом старении. Автором охарактеризованы изменения в содержании ламинов А, В1 и В2, а также SRPK1, LAP-2 α , сиртуина-1, LBR, TR- α и TR- β в широком возрастном диапазоне от 20 недель беременности и до 85 лет. Впервые проанализирована с привлечением статистического анализа связь между экспрессией изученных молекул и параметрами старения кожи, среди которых снижение скорости пролиферации и уменьшение числа фибробластов и кровеносных сосудов от рождения и до преклонного возраста.

Обнаружено два критических периода в снижении пролиферативной активности фибробластов дермы, числа фибробластов и кровеносных сосудов: от 0 до 20 лет и от 21 до 40 лет, которые необходимо учитывать при проведении медицинских манипуляций, связанных с диагностикой или косметологическими процедурами. Ламин В1, рецептор ламина В и SRPK1 впервые предложены как биомаркеры возрастных изменений при проведении геронтологических и морфологических исследований у детей и молодых

людей до 40 лет. Установлено, что метформин - препарат из группы бигуанидов, обладающий геропротекторными и онкопротекторными свойствами, угнетает пролиферацию фибробластов у мышей-самцов при длительном приеме, что необходимо учитывать при фармакотерапии. Впервые показано, что от рождения до 85 лет в фибробластах дермы прогрессивно снижается содержание рецепторов тиреоидных гормонов- α и - β . Установлено уменьшение содержания дермальных фибробластов и их пролиферативной активности при гипотиреозе одновременно с уменьшением содержания тиреоидных рецепторов- β , снижением экспрессии гена *thra* и активацией экспрессии гена *thrb*. Впервые выявлено, что при гипертиреозе число фибробластов увеличивается, но при этом их пролиферативная активность не меняется. Полученные сведения по экспрессии рецепторов тиреоидных гормонов в ходе старения кожи человека, а также при моделировании старения на лабораторных животных, а также взаимосвязь этих явлений с параметрами состояния кожи являются принципиально новыми.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов

и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа Голубцовой Н.Н. базируется на анализе результатов комплексного исследования 357 образцов кожи плодов и людей разных возрастов и 50 образцов кожи лабораторных мышей с последующей адекватной математической обработкой и сопоставлением большого массива данных в динамике. При решении задач, поставленных автором для реализации цели исследования, проведен анализ гистологических препаратов кожи с помощью гистологических, иммунохимических методов на 13 различных антигенах и ПЦР в реальном времени. Все это позволяет говорить о достоверности полученных автором результатов и обоснованности выводов, которые полностью отвечают поставленным цели и задачам.

Научные положения лаконично и четко сформулированы и являются фундаментом для развития нового научного направления по изучению белков ядра, как биомаркеров физиологического старения кожи, и использования их в качестве терапевтических мишеней.

1. Основные результаты и выводы диссертационной работы Голубцовой Н.Н. доложены и обсуждены на авторитетных международных и всероссийских конгрессах, съездах, конференциях, симпозиумах.

Тема диссертационной работы полностью отвечает требованиям, предъявляемым к работам по специальностям 14.01.30 – геронтология и гериатрия и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, о чем свидетельствуют опубликованные работы и выполненные гранты.

Общая характеристика диссертационной работы

Работа изложена на 231 странице машинописного текста. Написана по традиционному плану и содержит все необходимые разделы, в соответствии с требованиями ВАК РФ: «Введение», «Обзор литературы», «Материал и методы исследования», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Заключение», «Список литературы». Диссертационная работа аккуратно оформлена и хорошо иллюстрирована. Среди 106 рисунков большинство представлено микрофотографиями высокого качества, выполненными при 400-кратном увеличении. Для получения микрофотографий применяли микроскоп и камеру фирмы Olympus, Япония. В «Приложении» к диссертации содержатся микрофотографии, выполненные при 1000-кратном увеличении, полученные с помощью микроскопа Leica, Германия. Список литературы содержит 288 источников, из которых 33 отечественных и 255 зарубежных.

В главе «Введение» автор обсуждает актуальность изучения возрастных изменений и проблемы старения, описывает роль клеточного ядра в процессах деления и гибели клеток, его трехмерную организацию, необходимость позиционирования хромосом в ядре и механизмы реализации этого путем взаимодействия с ядерной оболочкой. Во «Введении» четко сформулированы цель и 7 задач исследования, дано обоснование ее научной новизны, теоретической и практической значимости.

В «Обзоре литературы» сделан критический анализ современных данных отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Автор приводит сведения о старении, белках в составе фиброзной ядерной пластинки и ассоциированных с ними протеидах. Отдельный раздел посвящен метформину, который обладает геропротекторным и онкопротекторным свойствами. Автор излагает данные о локализации тиреоидных рецепторов в структурах кожи и об эффектах тиреоидных гормонов на них. При чтении обзора литературы становится очевидной необходимость проведения исследования и актуальность данной проблемы.

В главе «Материал и методы исследования» подробно излагаются способ получения материала и его первичная обработка, описаны методы гистологического и иммуногистохимического исследований, дана корректная статистическая обработка полученных результатов. Автором использована современная количественная иммуногистохимия с применением большой группы маркеров, позволяющих адекватно оценить содержание регуляторных белков в фибробластах дермы человека в онтогенезе, что соответствует поставленным задачам. Экспериментальный раздел выполнен на лабораторных мышах двух возрастов при гипо- и гипертиреоидном состояниях и при введении метформина. Образцы кожи мышей проанализированы с использованием ПЦР в реальном времени. Все

исследования выполнены с соблюдением норм действующего законодательства и с одобрения локального этического комитета.

В главе «Результаты исследования», которая состоит из трёх глав, автор последовательно и детально описывает полученные в процессе работы данные по изучению фрагментов кожи плодов от 20 до 40 недель беременности, людей от рождения до 85 лет и экспериментального материала – образцов кожи мышей-самцов пубертатного возраста. «Результаты исследования» содержат значительное число микрофотографий, которые позволяют оценить возрастную динамику в изменении параметров старения дермы человека и животных.

В главе «Обсуждение результатов», привлекая к обсуждению данные литературы, диссертант подчеркивает новизну полученных результатов, тщательно анализирует полученные данные и сопоставляет их с результатами других исследователей. Основные итоги проведенных исследований обобщены в главе «Заключение». Представленные обширные данные логично обобщены, показана взаимосвязь между полученными результатами. На основании проведенного исследования сформулировано 7 ключевых выводов и дано 5 практических рекомендаций.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Полученные в диссертационном исследовании результаты имеют фундаментальное значение для понимания общих закономерностей, происходящих в процессе возрастных изменений соединительной ткани и старения дермы человека. Прикладной аспект полученных результатов важен для геронтологии, дерматологии и эндокринологии.

Работа поддержана РФФИ по проектам: 13-04-97112 «Морфологические характеристики дермы кожи человека в зависимости от степени активности факторов ангиогенеза и иммунного ответа в различные возрастные периоды», 16-44-210018 «Фундаментальные основы возрастной регуляции ангиогенеза в коже человека», 18-44-210001 «Роль механочувствительных белков в трансдукции сигнала тиреоидных гормонов в процессе физиологических возрастных изменений кожи человека».

Личный вклад автора

Автором лично намечены цель и задачи исследования, изучена мировая и отечественная научная литература по теме работы, определены подходы для решения намеченных задач. Автор непосредственно участвовал во всех ключевых этапах экспериментальной работы, в планировании и реализации экспериментов на лабораторных мышах. Им проводился анализ полученных

данных, их представление на конференциях и симпозиумах, подготовка основных публикаций по теме исследования, написание грантов.

Диссертация не содержит некорректных заимствований.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

Фундаментальное значение для геронтологии, клеточной биологии, гистологии, эндокринологии и дерматологии имеют полученные Н.Н. Голубцовой данные о взаимодействии белков фиброзной ядерной пластинки и функционально связанных с ними белков ядра в разные периоды онтогенеза, об особенностях тиреоидной сигнализации с учетом возраста, о динамических ассоциированных с возрастом изменениях числа фибробластов и кровеносных сосудов, об изменении пролиферативной активности фибробластов. Эти результаты дополняют современные знания о регуляции возрастных изменений в организме человека и могут быть включены в соответствующие разделы данных дисциплин. Значение результатов исследования для практики заключается в необходимости учитывать ингибирующее действие метформина на пролиферативную активность фибробластов соединительной ткани при длительной фармакотерапии. Необходимо также учитывать уменьшение содержания дермальных фибробластов и их пролиферативной активности при гипотиреозе, в особенности у людей пожилого и старческого возраста. Автором найдены новые мишени регуляции клеточных механизмов старения кожи, которые могут применяться как биомаркеры и в качестве терапевтических мишеней при апробации новых геропротекторных препаратов.

Характеристика публикаций по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 29 научных работ, из них 18 научных статей в журналах из перечня ВАК Минобрнауки РФ, в том числе 17 научных статей в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования. Содержание автореферата и печатных работ соответствует материалам диссертации.

Оформление диссертации и автореферата

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к диссертационным исследованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК и отражает основные результаты диссертационного исследования.

Замечания по работе

Принципиальных замечаний к работе нет. Работа выполнена на высоком методическом уровне. В плане обсуждения формата представления масштабных количественных данных полученных автором при изучении возрастной динамики параметров старения дермы человека можно отметить, что некоторые результаты следовало демонстрировать в виде таблиц, а не гистограмм. В порядке дискуссии по теме диссертации хотелось бы задать вопрос: Почему именно ламины привлекли внимание автора в качестве биомаркеров старения дермы человека?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Натальи Николаевны Голубцовой «Регуляторные механизмы развития и старения дермы человека», представленная к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 14.01.30 – геронтология и гериатрия и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, в которой на основании выполненных автором исследований сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое научное направление в области геронтологии и клеточной биологии направленное на выявление механизмов регуляции пролиферативной активности фибробластов и поддержание клеточного и сосудистого состава дермы при участии ядерных белков в процессе физиологического старения.

Работа вносит значимый вклад в изучение клеточных механизмов старения и понимание общебиологических закономерностей старения соединительной ткани, дополняет знания о старении в условиях изменения тиреоидного статуса и при введении антидиабетического препарата метформина.

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, объему исследования, глубине анализа и обобщения материала диссертационная работа Н.Н. Голубцовой полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Голубцова Наталья Николаевна, заслуживает присуждения ей ученой степени доктора биологических наук по специальностям 14.01.30 – геронтология и гериатрия и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на межлабораторном семинаре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (протокол № 6 от «22» апреля 2020 года).

Заместитель директора по науке,
Заведующий лабораторией молекулярной эндокринологии и нейрохимии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова Российской академии наук,
доктор биологических наук
(специальность «биохимия» – 03.01.04)

Александр Олегович Шпаков

Подпись А.О. Шпакова заверяю

Подпись руки
удостоверяю
канцелярией
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук

«30» апреля 2020 г.

30.04.2020

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН). Сайт института <https://www.iephb.ru>. Электронная почта: alex_shpakov@list.ru. Адрес: 194223, Россия, г. Санкт-Петербург, проспект Тореза, д. 44. Телефон: (812) 552-79-01.

