

ОТЗЫВ
ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
о диссертационной работе Голубцовой Натальи Николаевны
«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 диссертационной работы

Один из ключевых вопросов геронтологии, морфологии и дерматологии заключается в выяснении клеточных механизмов старения кожи и заболеваний самого большого органа человека. Внутриклеточные события, определяющие кинетику клеточного цикла, и факторы, имеющие решающее значение для пролиферативной активности, коренным образом влияют на клеточное старение и старческие изменения, а значит, имеют важнейшее значение для геронтологии. Среди этих факторов внутриядерные белки ламины, которые сплетаются под мембраной клеточного ядра в слой, называемый ядерной ламиной. Следует подчеркнуть, что они практически не изменились в ходе эволюции, поскольку играют решающую роль в разборке и последующей сборке ядра при клеточном делении. В недавних исследованиях показано, что у дрозофилы и млекопитающих ядерная ламина вызывает компактизацию и репрессию прилегающего к ней хроматина и, вероятно, может влиять на транскрипцию расположенных в этом домене генов. Следовательно, предположение автора, что причины возрастных изменений дермы человека могут быть связаны со структурнофункциональной компартиментализацией клеточного ядра фибробластов, имеет научное основание. Конкретные механизмы таких влияний еще предстоит выяснить, но их значение для активности ядра очевидно и имеет фундаментальное значение для клеточной биологии. Следует помнить, что большинство подобных исследований выполнено на мышинных эмбриональных стволовых клетках или культуре фибробластов, в то время как первостепенное значение имеют результаты изучения старения клеток непосредственно *in vivo* и *in situ*. Эти сведения решат проблему понимания общебиологических изменений, происходящих в клетке, ткани и организме в целом, на разных стадиях онтогенеза человека. Однако, не смотря на впечатляющие перспективы этих знаний, до сих пор остаются до конца не изученными огромное количество вопросов связанных с динамическими возрастными особенностями в содержании белков ламинов в фибробластах дермы человека, их взаимодействии с ламин-ассоциированными белками в разные возрастные периоды. Неизученными являются механизмы поддержания оптимального кровоснабжения ткани дермы с возрастом, которое также оказывает

влияние на численность и пролиферативные возможности фибробластов кожи человека. С другой стороны, регуляторами дифференциальной активности генов управляющих важнейшими клеточными процессами, такими как пролиферация и дифференцировка являются клеточная индукция, гормоны и другие факторы. В этой связи исследование параметров старения кожи при фармакологических воздействиях, например, при введении метформина, геропротекторные свойства которого в современной науке широко обсуждаются или измененного тиреоидного статуса, является весьма актуальным. Решение этих задач позволит восполнить дефицит знаний о многоуровневой системе регуляции фундаментальных процессов в дерме, направленных на поддержание пролиферативной активности фибробластов при физиологическом старении кожи человека. Из вышесказанного логично вытекает цель исследования, которая направлена на установление регуляторных механизмов поддержания клеточного и сосудистого состава дермы в процессе биологического развития и старения. В соответствии с поставленной целью автором решались семь основных задач:

1. Исследовать закономерности распределения ламина А и внутриядерных белков, функционально связанных с ламинем А (ламин-ассоциированный полипептид - 2 α , сиртуин 1), в дерме человека в возрастном аспекте и установить их регулирующее значение в механизмах возрастзависимого изменения их численности и пролиферативной активности фибробластов.
2. Охарактеризовать особенности распределения ламинов В1 и В2, а также рецептора ламина В в дерме человека в возрастном аспекте и механизмы участия этих белков в контроле пролиферации и численности фибробластов в дерме при физиологическом старении.
3. Изучить содержание и распределение SRPK1 в коже человека в возрастном аспекте и возможное регуляторное значение этого белка для поддержания клеточного состава и кровоснабжения дермы при физиологическом старении.
4. Определить возрастные особенности распределения в дерме человека и лабораторных мышей рецепторов тиреоидных гормонов- α и β , относительный уровень экспрессии гена рецепторов тиреоидных гормонов- α и β и дейодиназы 2-го типа. Установить механизмы влияния тиреоидных гормонов на ключевые морфологические изменения дермы, связанные с физиологическим старением.
5. На модели гипо- и гипертиреоза в эксперименте изучить влияние тиреоидных гормонов на пролиферацию и численность фибробластов в дерме мышей в возрастном аспекте.
6. Изучить пролиферативную активность фибробластов в дерме мышей двух возрастных групп при введении антидиабетического бигуанида метформина, имеющего

геропротекторные и антиканцерогенные свойства и определить его регулирующее влияние на пролиферацию фибробластов.

7. Проанализировать общие и органоспецифические механизмы поддержания клеточного и сосудистого состава дермы человека при физиологическом старении.

Решение обозначенных задач позволило автору диссертационной работы сформулировать пять основных Положений, являющихся фундаментальной основой нового научного направления по изучению ключевых звеньев регуляции пролиферации при физиологическом старении кожи человека.

Научная новизна полученных результатов

Диссертационная работа Голубцовой Н.Н. открывает новое научное направление по изучению внутридермных и мембрано-ассоциированных белков, имеющих значение для регуляции пролиферации фибробластов кожи в пренатальном и постнатальном онтогенезе человека. Автор получила приоритетные данные о ламине В1, рецепторе ламина В и SRPK1 как о ключевых звеньях механизма уменьшения числа фибробластов от рождения до 40 лет. При этом были выявлены и охарактеризованы также другие компоненты регуляторных механизмов морфогенеза дермы по регуляции численности и пролиферативной активности фибробластов при физиологическом старении кожи человека, среди них ламин А, ламин-ассоциированный полипептид - 2а и сиртуин 1. Впервые установлена разница в направленности влияния SRPK1 на поддержание клеточного состава и кровоснабжения дермы у человека с возрастом. Обсуждено значение ламина В2 в процессе хронологического старения кожи человека. Впервые заявлено о возрастном изменении трансдукции сигнала тиреоидных гормонов в клетках кожи как звене внутриклеточной регуляции численности и пролиферации фибробластов при хронологическом старении. Экспериментально продемонстрированы тиреоидзависимые сигнальные механизмы в регуляции функций кожи. Впервые обнаружено, что фармакологическая коррекция пролиферативной активности фибробластов у мышей с помощью бигуанида метформина напротив, оказывает антипролиферативное действие на фибробласты у мышей-самцов. В данной работе автор совмещает данные, полученные на человеческом материале и исследования на лабораторных животных, что также можно считать элементом новизны.

Для решения поставленных в работе задач, автор применил современные высокоспецифичные методы количественной иммуногистохимии, полимеразную цепную реакцию в реальном времени, цитоморфометрию и использовал обширный гистологический материал, объединяющий 357 образцов кожи плодов и людей разных

возрастов от 20 недель беременности до 85 лет. Для обоснования полученных результатов и сделанных на их основе выводов автор применил адекватные методы медико-биологической статистики, что является существенным и необходимым условием для получения корректных данных. Среди них непараметрический ранговый корреляционный анализ Спирмена, анализ влияния возраста на изученные параметры дермы с помощью однофакторного дисперсионного анализа, анализ половых различий для возрастных изменений параметров дермы с привлечением однофакторного дисперсионного анализа, где в качестве фактора использована половая принадлежность. Новыми следует считать данные об отсутствии влияния гендерного признака на изученные характеристики дермы.

Практическая значимость диссертационной работы

В качестве объекта исследования выступают образцы кожи, полученные от людей, а не от лабораторных животных. Этот подход позволяет напрямую использовать полученные результаты для поиска новых подходов к преодолению проблемы старения кожи. Полученные знания о биологических маркерах старения имеют значение в связи с развитием профилактического направления в превентивной геронтологии. Результаты исследования имеют прикладной интерес для геронтологов, дерматологов, эндокринологов и морфологов.

Достоверность и обоснованность полученных результатов

Трудоемкий гистологический и иммуногистохимический анализ позволил автору установить коррелятивные соотношения между изменениями в выбранных характеристиках кожи и полученными молекулярными данными. Выбор иммуногистохимического метода для решения задач обозначенных в диссертационной работе является оправданным и обоснованным, поскольку данный метод обладает специфичностью, достаточно экономичен по сравнению со многими современными методами исследования внутритканевых белков, например, конфокальной микроскопией и вестерн-блоттингом, но не уступает им по надежности и воспроизводимости, и в связи с этим, наиболее широко используется в научных и диагностических целях. Комплексный подход в оценке возрастных изменений содержания белков фиброзной ядерной пластинки - ламинов А, В1, В2, ядерных белков - ламин-ассоциированного полипептида-2 α , сиртуина 1, рецептора ламина В, SRPK1, рецепторов тиреоидных гормонов- α и β и применение адекватного статистического анализа также свидетельствуют в пользу достоверности полученных данных и подтверждает обоснованность представленных результатов.

Автор имеет публикации в рейтинговых российских и международных журналах, что подтверждает достоверность и надежность полученных результатов.

Общая оценка структуры и содержания диссертационной работы

Диссертационная работа Н.Н. Голубцовой содержит все требуемые главы: введение, обзор литературы, результаты собственных исследований, выводы, заключение, практические рекомендации, указатель литературы и имеет приложение. Текст диссертации изложен на 231 странице, содержит 106 рисунков и 2 таблицы. В списке литературы 33 русскоязычных и 270 англоязычных источников.

Обзор литературы отражает новейшие достижения мировой науки в области эмбрионального развития и возрастных изменений кожи как органа. Подробно излагаются данные о мембрано-ассоциированных белках ядра, сплайсинг-факторах, тиреоидных гормонах и метформине в свете их влияния на кожу и старение. Автор представляет характеристику иммуногистохимических маркеров, которые планирует применить для решения поставленных задач. Из глубокого анализа литературных данных формулируется цель и задачи работы. В Главе 3 тщательно обобщаются достигнутые результаты исследования кожи плодов и людей разных возрастов. Исследуемые образцы кожи человека в представленной работе делятся на пять возрастных групп, для каждой из которых изучаются параметры старения кожи и анализируется их корреляция с возрастом и полом. Работа содержит достаточно большое число иллюстративного материала, в основном микрофотографии хорошего качества, которые демонстрируют результаты иммуногистохимической реакции. Достоинством работы является наличие экспериментального раздела, выполненного на лабораторных мышах. Сопоставляются исследования параметров старения дермы человека и мышей. Приводятся данные о влиянии измененного тиреоидного статуса и бигуанида метформина на число и пролиферативную активность фибробластов у мышей, которые дополняются ПЦР-анализом. Все количественные исследования подтверждаются адекватным статистическим анализом. Выводы сформулированы достаточно четко, вытекают из полученных результатов и полностью соответствуют задачам. По теме диссертации опубликовано 29 работ, 18 статей в научных журналах рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 11 тезисов докладов международных и всероссийских конференций, съездов и конгрессов.

Использование результатов диссертационной работы в научной работе и учебном процессе

Результаты исследования внедрены в учебный процесс и научную работу

медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова». Данные о возрастной динамике числа фибробластов, кровеносных сосудов и пролиферативной активности фибробластов используются в диагностической практике патологоанатомического отделения АУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Чувашии. Данные о влиянии эндокринной системы на старение кожи учитываются при проведении процедур в косметологической клинике «Санитас», г. Чебоксары в связи с актуальным для региона йодным дефицитом.

Вопросы и замечания по работе

Принципиальных замечаний к работе нет. Мне хотелось бы задать соискателю два уточняющих вопроса:

1. В диссертационной работе показано уменьшение содержания тиреоидных рецепторов в фибробластах дермы человека при физиологическом старении. Имеется ли связь между тиреоидными рецепторами и внутриядерными белками, исследованными Вами в качестве маркеров старения кожи человека?

2. Как Вы объясняете выявленное угнетение пролиферации фибробластов дермы при введении метформина, который по другим данным обладает геропротекторным действием и пролонгирует продолжительность жизни мышей в эксперименте?

Эти вопросы никак не влияют на высокую положительную оценку работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Натальи Николаевны Голубцовой «Регуляторные механизмы развития и старения дермы человека», представленная к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук, является законченным, научно-исследовательским трудом, выполненным с применением гистологических и иммуногистохимических методов, которые направлены на решение актуальной проблемы установления механизмов участия внутриядерных белков ламинов и ламин-ассоциированных протеинов в регуляции физиологического старения кожи человека. В целом диссертация относится к числу фундаментальных исследований, ориентированных на медицинскую практику. По актуальности, новизне, научной и практической значимости, объему проведенных исследований, тщательности анализа и обобщения материала рассматриваемая диссертационная работа в полной мере соответствует требованиям п.9 и п.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 (биологические науки) и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент –
заведующий лабораторией онтогенеза нервной
системы федерального государственного бюджетного
учреждения науки Институт физиологии
им. И.П. Павлова РАН,
чл.-корр. РАН, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор
03.03.01 - физиология

Владимир Александрович Отеллин



«16» мая 2020 г.

Подпись В.А. Отеллина заверяю



Подпись руки	<i>В.А. Отеллин</i>
Где заверено	<i>Дир. Кошаров</i>
Должность	<i>Д.В.</i>

Полное название организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук (ИФ РАН).
Почтовый адрес: 199034, г. С-Петербург, наб. Макарова, 6.
Телефон: 8(812)328-11-01,
адрес электронной почты: Pavlov.institute@infran.ru, веб-сайт: www.infran.ru.

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Голубцовой Натальи Николаевны
«Регуляторные механизмы развития и старения дермы человека»,
представленную 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 диссертационной работы

Проблему старения можно поставить на одну из лидирующих позиций среди медико-биологических направлений научных исследований. Для человека всегда был актуальным вопрос: как замедлить процесс естественного старения, проявления которого связаны, в том числе, с изменениями морфологического строения кожи? Понимание механизмов, регулирующих клеточное старение фибробластов – основных клеток субэпидермального слоя кожи, откроет новые возможности для разработки геропротекторных косметологических препаратов адресного воздействия.

Кожа занимает пограничное положение между внешней и внутренней средой организма человека, поэтому состояние органа во многом определяется его барьерной функцией. В то же время многие патологические процессы имеют кожные проявления и важны для дифференциальной диагностики этих заболеваний. Таким образом, состояние и внешний вид кожи является индикатором для определения морфофункционального состояния различных органов и систем, а также агрессивного влияния природных и техногенных факторов среды.

С возрастом кожные покровы претерпевают существенные изменения: кожа становится дряблой, сухой, появляются морщины. К сожалению, на сегодняшний день, возможности дермато-косметологии ограничены, в связи с недостаточным пониманием механизмов, инициирующих старение фибробластов, а также внутриклеточных процессов, которые руководят митотической активностью этих клеток при хронологическом старении и в

условиях возрастной патологии у мужчин и женщин. Для оптимального функционирования дермальных фибробластов важны процессы физиологического и репаративного ангиогенеза, гуморальные регулирующие факторы, в их числе тиреоидные гормоны. Поэтому обоснование закономерностей возрастных изменений числа и пролиферативной активности фибробластов дермы человека, которое предпринято в работе Н.Н. Голубцовой при физиологическом старении и гормональных нарушениях, позволит приблизиться к решению важнейшей проблемы возрастных изменений кожи человека и установить новые общебиологические аспекты возрастных изменений морфологии фибробластов.

Научная новизна полученных результатов

Н.Н. Голубцовой получены результаты о локализации и уровне экспрессии молекулярных компонентов кожи на протяжении значительного периода онтогенеза человека от 20 недель антенатального периода до 85 лет. Новыми для науки являются доказательства ассоциированных с возрастом изменений содержания белков фиброзной ядерной пластинки, их связи с признаками старения кожи человека такими, как уменьшение количества фибробластов и кровеносных сосудов, пролиферативной активностью фибробластов. Обоснована возможность использования морфологии ядерной пластинки как надежного маркера старения фибробластов.

Получены сведения по содержанию рецепторов тиреоидных гормонов в ходе старения кожи человека, а также при моделировании старения на лабораторных животных. Определен относительный уровень экспрессии генов рецепторов тиреоидных гормонов и дейодиназы 2-го типа в связи с возрастом и изменением тиреоидного статуса. Связь этих явлений с параметрами старения кожи является новой в этой области исследований. Впервые проанализировано влияние препарата метформин, обладающего

свойствами геропротектора, на ассоциированные с возрастом изменения численности и пролиферации фибробластов в дерме.

Научно-практическая ценность полученных автором результатов

Содержание диссертации, ее основные выводы и положения могут быть использованы для дальнейшего углубленного изучения возрастных изменений белкового и рецепторного состава фибробластов, которые являются преобладающим типом клеток волокнистой соединительной ткани. Для фундаментальной науки важнейшее значение имеет установленная автором зависимость между прогрессирующим уменьшением числа фибробластов и изменением содержания ламинов и других белков внутренней мембраны и матрикса ядра, которые, вероятно, являются эпигенетическим инструментом регуляции пролиферации фибробластов. Новые научные знания о роли компонентов ядерной пластинки в физиологических возрастных изменениях кожи человека, могут стать основой для разработки новых способов и технологий, эффективно препятствующих старению кожи человека, и должны учитываться при проведении научных исследований в области геронтологии, дерматологии и возрастной гистологии. Результаты данного исследования внедрены в учебно-педагогический процесс медицинского факультета и применяются в практическом здравоохранении.

Достоверность и обоснованность полученных результатов

Диссертационная работа Н.Н. Голубцовой является завершенным научно-квалификационным исследованием. Автором получены приоритетные доказательства о роли внутриядерных белков в регуляторных механизмах, управляющих клеточным и сосудистым гомеостазом дермы с возрастом. Для достижения поставленной цели и решения обозначенной проблемы был использован комплексный подход с применением иммуногистохимического метода, метода ПЦР в реальном времени,

цитоморфометрического метода, адекватного статистического анализа. Результаты исследования кожи человека подтверждены и дополнены с помощью экспериментального метода на лабораторных животных.

Вышесказанное, а также большое число публикаций по теме диссертации в рецензируемых журналах подтверждают достоверность и надежность полученных результатов. По теме диссертации опубликовано 29 работ, 18 статей в научных журналах рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 11 тезисов докладов международных и всероссийских конференций, съездов и конгрессов.

Структура, содержание и оформление диссертационной работы

Диссертационная работа изложена на 231 странице машинописного текста, иллюстрирована 106 рисунками и 2 таблицами. Работа построена классическим образом и состоит из введения, обзора литературы, описания результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы и приложения. Список литературы содержит 303 источника, из них на русском языке — 33, на английском — 270.

Во введении обоснована актуальность исследования, четко и понятно сформулированы цель и 7 задач. В этом разделе обсуждается научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Глава 1 «Обзор литературы» содержит современные знания об эмбриональном развитии, становлении кожи как органа и ее физиологическом старении. Приведены данные о структуре и белковом составе фиброзной ядерной пластинки, влиянии тиреоидных гормонов и метформина на строение и функцию кожи, приводится характеристика и обоснование выбора иммуногистохимических маркеров для выявления фибробластов и кровеносных сосудов. Обзор написан хорошим литературным языком, свидетельствует о глубоком анализе периодической литературы и владении автором изучаемой проблемой.

В Главе 2 подробно описывается дизайн исследования, приводится информация об использованных материалах и методах. Сообщается, что в исследовании изучались фрагменты кожи плодов и людей, а также лабораторных животных, приводятся данные производителей моноклональных и поликлональных антител, их разведении и условиях постановки ИГХ-метода. Описывается метод полимеразной цепной реакции для установления относительного уровня экспрессии генов. Автор хорошо справился с представлением обширного методического материала и статистической обработки данных.

Глава 3 разделена на 3 больших раздела, в каждом разделе выделены несколько подразделов. 12 подразделов первой части содержат результаты исследования параметров старения дермы человека, которые сопровождаются качественными микрофотографиями, отражающими результаты иммуногистохимической реакции. Второй раздел посвящен результатам экспериментальной части работы, выполненной на лабораторных мышах в условиях хронологического старения животных, моделирования гипо- и гипертиреоза, введении метформина. Приводятся статистические доказательства выдвинутой гипотезы. Третий раздел содержит данные об изменении относительного уровня экспрессии генов *thra*, *thrb* и *dio2* у мышей разных возрастов, введении метформина и при изменении уровня тиреоидных гормонов.

В разделе «Заключение» автор умело сопоставляет основные результаты выполненного исследования с литературными данными по проблеме. Обозначенное автором новое научное направление по изучению роли внутриядерных белков для поддержания клеточного и сосудистого баланса в дерме с возрастом имеет важное научно-практическое значение. Выводы полностью отражают результаты исследования и согласуются с поставленными в работе задачами.

Вопросы и замечания по работе

Хотелось бы задать соискателю несколько уточняющих вопросов:

- 1) Как Вы оцениваете геропротекторное действие метформина, если под его влиянием снижается пролиферативная активность и количество фибробластов в дерме?
- 2) Принимая во внимание сложность постановки методов исследования и их стоимость, изучение каких показателей Вы можете рекомендовать для оценки влияния распространенных в косметологии препаратов на процессы старения?

Вопросы не носят принципиального характера, не отражаются на достоверности и значимости результатов диссертационного исследования Н.Н. Голубцовой и не влияют на общую положительную оценку работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационное исследование Натальи Николаевны Голубцовой «Регуляторные механизмы развития и старения дермы человека», представленное на соискание ученой степени доктора биологических наук, является завершенным научно-квалификационным исследованием. Данная работа содержит решение актуальной научно-практической проблемы современной геронтологии, морфологии, а также кожных и венерических болезней по обоснованию концепции механизма уменьшения числа фибробластов и кровеносных сосудов в дерме человека в процессе физиологического старения.

По актуальности, новизне, методическому уровню, научной и практической значимости, объему проведенных исследований, тщательности анализа и обобщения материала диссертационная работа полностью соответствует п.9 и п.14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденному Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изменениями от 21.04.2016 г. №335, от 01.10.2018г. № 1168, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора

биологических наук, а ее автор - Голубцова Наталья Николаевна - заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 14.01.30 – геронтология и гериатрия (биологические науки) и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук

14.00.11 кожные и венерические болезни,

14.00.36 аллергология и иммунология,

профессор, заведующая кафедрой косметологии

ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова

Минздрава России

Королькова Т.Н. Королькова

« 11 » мая 2020 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России)

191015, г. Санкт-Петербург, Кирочная улица, дом 41.

Тел. (812) 303 50 00

e-mail: rectorat@szgmu.ru

Подпись Т.Н. Корольковой заверяю

Проректор по науке и инновационной деятельности

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный

медицинский университет имени И.И. Мечникова

Минздрава России

« 11 » мая 2020 г.

печать

Силин А.В.



ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Ягловой Натальи Валентиновны на диссертационную работу Голубцовой Натальи Николаевны «Регуляторные механизмы развития и старения дермы человека», представленную 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 диссертации

Механизмы постнатального гистогенеза, регенерации и старения являются основными и активно изучаемыми проблемами гистологии и цитологии. Несмотря на это, современные представления о развитии и старении органов фрагментарны и не формируют основ, которые могли бы быть теоретическим обоснованием для практической деятельности геронтологов. Работы в этой области являются не только актуальными, но и имеющими медико-социальную значимость. Кожа представляет собой барьерный защитный орган, находящийся в непосредственном контакте с окружающей средой, от морфофункциональных свойств которого зависит поддержание постоянства внутренней среды.

Объектом диссертационного исследования служили белки входящие в состав ядерной пластинки, белки внутренней ядерной мембраны, ядерного матрикса, тиреоидные рецепторы, которые задействованы в возрастной регуляции численности и пролиферации фибробластов дермы человека, ухудшении кровоснабжения дермы с возрастом. Уменьшение количества клеток фибробластического дифферона при физиологическом старении приводит к изменению состава внеклеточного матрикса дермы, нарушению соотношения между клеточным и внеклеточным компонентом дермы. Ассоциированное с возрастом изменение цитоархитектоники соединительной ткани дермы в свою очередь ведет к ухудшению внешнего вида кожи и, как следствие, ухудшению качества жизни человека. Непрерывный поиск новых технологий омоложения кожи и биомаркеров старения фибробластов на сегодняшний день ограничен нашими знаниями о причинах возрастного изменения морфофункциональных свойств

фибробластов и их пролиферации, а также ассоциированного с возрастом уменьшения числа кровеносных сосудов в дерме.

Учитывая вышеизложенное, тема диссертационного исследования Н.Н. Голубцовой по изучению регуляторных механизмов развития и старения кожи обладает несомненной актуальностью как для геронтологии, так и клеточной биологии, цитологии, гистологии, а задачи, сформулированные автором, позволяют установить роль белков входящих в состав ядерной пластинки, внутренней ядерной мембраны, ядерного матрикса и тиреоидных рецепторов в развитии и инволютивных процессов в дерме.

Научная новизна

Автором получены новые данные об изменении параметров старения дермы на протяжении всего онтогенеза. Новыми являются данные о влиянии сигналинга тиреоидных гормонов на возрастное снижение численности и пролиферативной активности фибробластов. Впервые представлены данные о корреляционной зависимости между изменениями ламина В1, ламин В рецептора, SRPK1 и максимальным уменьшением численности и пролиферации фибробластов от рождения до 20 лет. Впервые продемонстрирован линейный характер изменений ламина А, ламин-ассоциированного полипептида-2 α и SRPK1 от 20 недель беременности и до 85 лет и корреляция этих изменений с параметрами старения кожи человека. Новыми и значимыми для практической медицины являются данные об изменении численности и пролиферативной активности фибробластов при экспериментальном изменении тиреоидного статуса и действии метформина у мышей-самцов пубертантного возраста.

Достоверность представленных данных, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Представленная работа является самостоятельным научным исследованием, которое выполнено на большом по объему материале и высоком методологическом уровне. Особое значение имеют использованные

в работе 357 фрагментов кожи человека в широком возрастном диапазоне, начиная от антенатального периода и до глубокой старости. Исследуемые образцы кожи человека разделены по возрастному принципу на пять групп: 20-40 недель беременности, от рождения до 20 лет, от 21 до 40 лет, от 41 до 60 лет, от 61 до 85 лет. В исследуемые группы включены образцы кожи как мужчин, так и женщин, поскольку с помощью однофакторного дисперсионного анализа, где в качестве фактора использована половая принадлежность, установлено, что по изучаемым параметрам гендерных отличий нет.

Экспериментальные группы животных стандартизированы по массе, возрасту и полу. При иммуногистохимическом окрашивании все гистологические препараты обрабатывались в соответствии с протоколом окрашивания одномоментно, были выдержаны одинаковые температурные и временные параметры. Выводы и научные положения диссертационной работы обоснованы и логично вытекают из полученных результатов. Четко сформулированная рабочая гипотеза подтверждена адекватными методами статистической обработки. В целом, научно-методический уровень диссертационной работы оценивается высоко. Достоверность представленных данных и выводов не вызывает сомнений.

Материалы диссертации полностью опубликованы в 29 печатных работах, из них 18 в рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК для защиты кандидатских и докторских диссертаций: 3 в WoS, 14 в Scopus, 1 статья в других изданиях из перечня ВАК и 11 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях и конгрессах.

Значение полученных результатов для теории и практики

Работа Н.Н. Голубцовой обладает ценностью для науки, так как представленные в диссертационной работе данные являются фундаментальными и расширяют имеющиеся сведения о морфофункциональной организации ядра фибробластов при

физиологическом старении кожи человека, а также способствует лучшему пониманию общих закономерностей уменьшения численности и пролиферативной активности фибробластов с возрастом. Изученные белки могут быть использованы в дальнейших научных изысканиях и клинической практике как биомаркеры старения дермы человека.

Автором установлена корреляционная зависимость между морфологическими параметрами старения фибробластов дермы, такими как уменьшение численности и снижение пролиферативной активности фибробластов, уменьшение числа кровеносных сосудов, с белками фиброзной ядерной пластинки и ассоциированными с ними белками.

Установлена корреляционная зависимость между изменением содержания тиреоидных рецепторов и возрастными параметрами дермы человека. Показано наличие зависимости между возрастными изменениями сигнализации тиреоидных гормонов и структурными белками ядра. При этом впервые показано отсутствие гендерных отличий в изменении содержания белков фиброзной ядерной пластинки и содержании тиреоидных рецепторов в фибробластах дермы человека при физиологическом старении. В экспериментальных условиях продемонстрировано влияние измененного тиреоидного статуса и бигуанида-метформина на параметры старения дермы у мышей.

Результаты работы внедрены в лекционные курсы кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины, кафедры дерматовенерологии с курсом гигиены медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», а также в практическую работу патологоанатомического отделения онкологического диспансера и косметологической клиники.

Личный вклад автора

Автор участвовал в реализации всех этапов исследования, самостоятельно формулировал цель и ставил задачи исследования, искал пути их достижения, изучая мировую периодическую литературу по данной

проблеме. Автором лично проведен тщательный анализ полученных результатов, сделаны выводы и сформулированы практические рекомендации.

Содержание диссертации и ее завершенность

Диссертационная работа имеет структурированный и завершенный характер. Она изложена на 231 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материала и методов, раздела собственных исследований, их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, списка иллюстративного материала и Приложения. Список литературы включает 33 отечественных и 270 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 106 рисунками, большая часть из которых представлена фотоснимками высокого качества, сделанными с гистологических срезов кожи человека разных возрастов, полов, при разных методах окрашивания.

Во введении автор обосновывает выбор темы и актуальность проведенного исследования, степень разработанности проблемы и формирует цель и задачи исследования. Цель работы полностью соответствует теме. Задачи позволяют реализовывать поставленную цель, и целиком решены при проведении работы.

Обзор литературы посвящен сравнительно-возрастным аспектам морфологии кожи, основным белкам, изученным в работе и иммуногистохимическим маркерам фибробластов и кровеносных сосудов. В целом, обзор литературы написан четко и убедительно, на основании современной научной периодики.

Материалы и методы исследования описаны подробно. Охарактеризованы основополагающие принципы постановки иммуногистохимической реакции, ПЦР-анализа в режиме реального времени.

Глава «Результаты собственных исследований» изложена последовательно в соответствии с логикой построения раздела «Материалы и

методы». Автор диссертационной работы последовательно и детально описывает полученные в процессе работы данные, сопровождая описание фотодокументами в виде микрофотографий. Проводит их подробный сравнительный и статистический анализ, формулирует обоснованные заключения.

Обсуждение результатов сделано автором на основе литературных данных, диссертант правильно подчеркивает новизну полученных результатов. В заключении автор обобщает полученные материалы, теоретически их обосновывает, подводя итог всей работы, и резюмирует выявленные общебиологические закономерности.

Вопросы и замечания по работе

Принципиальных замечаний и спорных положений в работе нет.

Заключение

Диссертационная работа Голубцовой Натальи Николаевны на тему «Регуляторные механизмы развития и старения дермы человека», научные консультанты: член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор Анисимов Владимир Николаевич, доктор медицинских наук, профессор Гунин Андрей Германович, представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.30 – геронтология и гериатрия и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, является завершенной научной квалификационной работой и решает важную научную проблему выявления внутриклеточных регуляторных механизмов, связанных с поддержанием клеточного и сосудистого гомеостаза дермы человека при физиологическом старении.

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, объему проведенных исследований, тщательности анализа и обобщения материала рассматриваемая диссертация полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...» утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановления Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г.),

предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Голубцова Наталья Николаевна, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 14.01.30 – геронтология и гериатрия (биологические науки) и 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент –
заведующая лабораторией развития
эндокринной системы

Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт
морфологии человека»

Министерства науки и высшего образования
Российской Федерации (ФГБНУ «НИИМЧ» Минобрнауки России)

доктор медицинских наук по специальностям

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

03.01.04 – биохимия

Н.В. Яглова

Почтовый адрес: 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д.3

Тел.: 8 (499) 120-80-65

Адрес электронной почты: morfolhum@mail.ru

Веб-сайт: www.morfolhum.ru

06 мая 2020г.

Подпись Н.В. Ягловой заверяю

Заместитель директора НИИМЧ
по научной работе



к.б.н. Т.В. Безуглова