

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доцента, и.о. заведующего кафедрой Биологической химии (биохимии) имени Р.И.Лифшица ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, д.м.н. Синицкого Антона Ивановича на диссертационную работу Галеевой Айгуль Гафуровны «Локальные изменения метаболизма кожи при внутридермальном введении нестабилизированной высокомолекулярной гиалуроновой кислоты в эксперименте», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – Биохимия (медицинские науки).

### Актуальность темы диссертации

Биологическое старение проявляется изменениями метаболизма, снижением адаптационных возможностей и надёжности функционирования отдельных органов и систем, способствует развитию возрастной патологии. Эти изменения нарастают с разной скоростью, различаются по выраженности и времени в отдельных тканях. Особенно рано у человека выявляются инволюция кожи, что сказывается на качестве жизни. В современных условиях профилактика и коррекция возрастных изменений кожи становится все более актуальной задачей. Это обусловлено не только эстетическим и биологическими моментами, но и проблемой этиологии и патогенеза ряда дерматологических заболеваний, ассоциированных со старением.

Диссертационная работа, посвященная выявлению клеточно - метаболических механизмов влияния гиалуроновой кислоты в зонах её внутридермального введения, представляется актуальной, поскольку препараты гиалуроновой кислоты в настоящее время широко используются для восстановления и улучшения эстетических качеств кожи. В то же время данные литературы не позволяют однозначно интерпретировать молекулярные механизмы их применения.

### Достоверность и научная новизна исследования и полученных результатов

Результаты, полученные в диссертационной работе, а также выводы, сформулированные диссертантом, обладают необходимой степенью научной новизны. Изучение динамики метаболизма углеводов в коже экспериментальных животных зрелого возраста в области внутридермального введения препарата гиалуроновой кислоты позволило установить различия в динамике течения окислительных процессов в зависимости от сроков исследования: в ближайшие дни усиление - анаэробных, а в отдалённые - интенсификацию аэробных процессов с повышением биосинтеза собственных компонентов внеклеточного матрикса дермы – гиалуроновой кислоты, суммарных гетерополисахаридов и коллагена.

В представленной работе впервые показано наличие у препарата гиалуроновой кислоты антиоксидантных свойств. Важным аспектом работы является установление механизмов стимуляции репаративной регенерации кожи в зонах внутридермального введения препарата. Автором впервые показано повышение уровня ряда факторов роста, в частности инсулиноподобного фактора

роста – 1 и трансформирующего ростового фактора – бета 1, а также усиление процессов пролиферации с увеличением числа клеток, экспрессирующих такие маркёры, как белок Ki-67 и фактор роста фибробластов – 1.

В целом необходимо подчеркнуть, что использованные биохимические, гистологические и иммуногистохимические методы информативны, современны и адекватны поставленным задачам. Общий объём проведённых исследований, статистическая обработка данных дают основание считать полученные в диссертации результаты и сделанные на их основе выводы достоверными.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и заключений и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Достаточный объём исследований, использование современных биологических и иммуногистохимических методов и аппаратуры, адекватная статистическая обработка результатов убеждают в обоснованности научных положений, сформулированных в представленной диссертационной работе. Используемые в диссертации экспериментальная модель и методы исследования базируются на известных и проверяемых фактах. Положения, выносимые на защиту, выводы диссертации определенные результатами исследования, соответствуют содержанию работы, поставленной цели и задачам.

#### **Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертации**

Диссертационная работа основана на экспериментальном материале и носит фундаментальный характер. Результаты работы характеризуют клеточно-метаболические механизмы действия гиалуроновой кислоты в коже в зонах внутридермального введения. Выявление характера метаболизма основанных биополимеров экстрацеллюлярного матрикса в зависимости от сроков введения гиалуроновой кислоты методом мезотерапии, экспрессии и участия ряда цитокинов и факторов роста в процессах репаративной регенерации инволюционно изменённой кожи, состояния про- и антиоксидантных процессов в механизмах метаболических эффектов свидетельствует о необходимости разработки индивидуальных схем активации процессов биоревитализации кожи при использовании препаратов гиалуроновой кислоты. При этом необходимо учитывать, что введение экзогенной гиалуроновой кислоты не только восполняет дефицит эндогенного гиалуронана, повышая тургор и эластичность кожи, объём дермы, а вызывает одновременно метаболические изменения, усиливает процессы пролиферации и функциональной активности фибробластов.

#### **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Положения, сформулированные в диссертации, могут быть использованы в проведении дальнейших исследований по эффективности и особенностям молекулярных механизмов действия немодифицированной и модифицированной гиалуроновой кислоты с различной молекулярной массой на обменные и

пролиферативные процессы кожи, особенно на участках, подверженных воздействию факторов, приводящих к ускоренному старению.

Результаты работы могут использоваться в учебном процессе по биологической химии в разделах биохимии соединительной ткани, биохимии старения, клинической биохимии при подготовке и переподготовке, тематическом усовершенствовании по курсам геронтологии, дерматокосметологии.

### Оценка содержания диссертации и её завершенности

Диссертации изложена на 174 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы результатов исследования, заключения, выводов, списка сокращения и литературы. Список литературы включает 275 источников, в том числе 112 отечественных и 163 зарубежных. Иллюстративный материал представлен 38 рисунками и 12 таблицами.

Введение изложено в традиционном стиле. Диссертант освещает актуальность темы, формирует цель и задачи исследования, представляет научную новизну, теоретическую и практическую значимость, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности, апробации результатов исследования, а также личный вклад автора, в выполнении работы, внедрение, публикации, объем и структуру диссертации.

Глава 1 представляет обзор литературы, в котором анализируются данные о биохимических, молекулярно-биологических механизмах и проявлениях старения кожи, особенности структуры, физико-химических свойств, обмена и физиологических свойств гиалуроновой кислоты, а также инъекционные средства на основе гиалуронана, применяемые в косметологии. Материал, представленный в обзоре литературы, свидетельствует о том, что диссертант глубоко изучил современный уровень знаний о предмете своего исследования.

В главе «Материалы и методы исследования» представлены сведения об экспериментальной модели, схемах введения гиалуронана, методах получения биологического материала, методах исследования. Эксперименты выполнены на 30 крысах молодого возраста и 160 самках беспородных крыс зрелого возраста. В работе использованы современные, биохимические, гистологические и иммуногистохимические методы исследования. Доказательность полученных данных обеспечена статистической обработкой результатов.

Глава 3 посвящена результатам исследования и их обсуждения. Автор предварительно на основании изучения основных биохимических параметров сыворотки крови экспериментальных животных показывает, что введение препарата высокомолекулярной нативной гиалуроновой кислоты не приводит к изменению биохимического статуса крыс.

Изучение уровней в коже в зонах введения гиалуронана уровней лактата, пирувата и их соотношения, активности лактатдегидрогеназы, гексокиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, содержания гликогена, гиалуроновой кислоты и суммарных гликозаминогликанов позволили диссертанту прийти к заключению о том, что в отдаленные сроки (4-5 недель) в коже наблюдается активация аэробного

окисления глюкозы и интенсификация синтеза гиалуроновой кислоты и других гликозаминогликанов.

Важно отметить, что внутридермальное введение гиалуронана, по данным автора, приводит к увеличению содержания в коже животных продуктов липопероксидации и окислительной модификации белков, что автор связывает с воспалительным ответом кожи на процедуру мезотерапии. Нативный гиалуронан при этом способствует снижению интенсивности свободнорадикальных процессов.

Вызывают интерес результаты изучения содержания в сыворотке крови таких цитокинов как интерлейкин-1 $\beta$  и фактор некроза опухоли - альфа, инсулиноподобный фактор роста-1 и трансформирующий фактор роста- $\beta$ 1. В первые дни после введения препарата гиалуроновой кислоты наблюдалось увеличение уровня провоспалительных цитокинов, а в отдаленные сроки - плейотропных факторов роста. Эти данные, с одной стороны, подтверждают наличие воспалительного ответа ткани кожи на введение гиалуронана способом мезотерапии, а, с другой, участие гиалуронана и продуктов его катаболизма в инициации процессов пролиферации и активации функции фибробластов и других клеток кожи в репарации основных компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Активное участие фибробластов и других клеток, включая макрофаги, доказано определением содержания суммарного и нейтральносолеорастворимого коллагена, гистологическими, гистохимическими методами окраски коллагена, гликозаминогликанов и иммуногистохимическими методами определения маркёров пролиферации Ki-67 и фактора роста фибробластов – 1.

В разделе «Заключение» диссертант приводит обобщение результатов выполненного исследования, а также их обсуждение.

Выводы вытекают из сущности исследования, соответствуют цели и задачам работы. Список литературы составлен в соответствии с требованиями ГОСТ. Автореферат и опубликованные статьи отражают основное содержание диссертации.

#### **Достоинства и недостатки содержания и оформления диссертации**

Диссертация оформлена согласно требованиям. В целом она представляет завершённую научно-квалифицированную работу. Выполнена на высоком уровне с использованием современных методов исследования. Содержит новые сведения и значима для медицины и биохимии. Работа содержит достаточный объём материала. В ходе работы сделаны обоснованные и правомочные выводы и научные положения.

Заявленные цели и задачи исследования в работе решены.

В целом работа заслуживает положительной оценки. Считаю, что диссертантом получен новый интересный материал, однако в порядке дискуссии хотелось бы задать несколько вопросов.

1. С какой целью проводили изучение показателей про- и антиоксидантной системы в коже крыс молодого возраста?
2. Каковы возможные механизмы антиокислительного действия гиалуроновой кислоты?

3. Какова роль макрофагов в механизмах репаративной регенерации в зонах инволюционного изменения кожи при введении гиалуроновой кислоты?
4. Чем обусловлен выбор изучаемых Вами цитокинов и фактора роста?

### Заключение

Диссертация Галеевой Айгуль Гафуровны «Локальные изменения метаболизма кожи при внутридермальном введении нестабилизированной высокомолекулярной гиалуроновой кислоты в эксперименте», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалифицированной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи по выявлению метаболических механизмов влияния гиалуроновой кислоты на инволюционно измененную кожу, имеющий важное значение для медицины и биохимии. Работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждении ученых степеней» ВАК, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. в редакции постановления Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г., а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

#### Официальный оппонент:

И.о. заведующего кафедрой биологической химии (биохимии)  
им. Р.И. Лифшица,  
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский  
государственный медицинский университет»,  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор медицинских наук (03.01.04 – Биохимия)

 Сеницкий А.И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 454092, Российская Федерация, Уральский Федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, Телефон: +7 (351) 232-73-69, Факс: +7 (351) 232-74-82, E-mail: [kanc@chelsma.ru](mailto:kanc@chelsma.ru).

Подпись д.м.н.,  
А.И. Сеницкого заверяю  
Проректор по научной,  
инновационной и международной работе



 Л.Ф.Телешева

« 28 » января 2017 г.