

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Янина Владимира Леонидовича на диссертацию Кенсовской Инны Михайловны «Закономерности изменений соединительной ткани кожи в восстановительном процессе при использовании пролактина (экспериментальное исследование)», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность избранной темы

Как известно, кожа – жизненно важный орган, образующий внешний покров, защищающий организм от повреждений и выполняющий ряд иных функций. Не существует такого травматического повреждения или хирургической операции, при которых бы кожа не подвергалась воздействию. Согласно данным ВОЗ, в мире ежегодно получают травмы около 50 млн человек и более 100 млн подвергаются хирургическим вмешательствам. Чаще всего, регенерация завершается формированием регенерата рубцового типа, который существенно отличается от замещаемых им тканей и характеризуется пониженными функциональными свойствами. Келоидные и гипертрофические рубцы наблюдаются у 1,5–4,5 %, а по некоторым данным – у 10 % общей популяции. Несмотря на совершенствование методов лечения травм, необходимость предотвращения избыточного рубцеобразования после травматических повреждений является актуальной научно-практической задачей. В настоящее время нет единых подходов к профилактике и лечению рубцующейся ткани. Большинство описанных методов лечения и профилактики избыточного роста соединительной ткани у пациентов, у которых сформировались келоидные и гипертрофические рубцы, не основаны на глубоких представлениях о структурно-функциональных механизмах репаративной регенерации кожи человека. До настоящего времени нет методов лечения, которые надежно остановили бы прогрессирование патологического рубца.

Гормон пролактин относится к семейству белковых гормонов роста, в группу которых входят соматотропный гормон, плацентарный соматомаммотропин и пролактин. Кроме того, что пролактин участвует в регуляции лактации и репродуктивного цикла, гормон обладает целым спектром физиологических эффектов: повышает резистентность организма к повреждающим воздействиям, усиливает миграцию лейкоцитов при воспалении, активизирует фагоцитарную активность макрофагов и фибробластов, оказывает влияние на углеводный, белковый, жировой и водно-солевой обмена, обладает иммуномодулирующим и стресс-лимитирующим эффектом.

Работами профессора В.Г. Изатулина выявлены ранее неизвестные эффекты гормона пролактина, которые дали начало серии работ по изучению влияния гормона на процессы регенерации кожи. Однако работ по изучению местного воздействия гормона на течение раневого процесса в коже недостаточно.

Таким образом, диссертация Кенсовской Инны Михайловны «Закономерности изменений соединительной ткани кожи в восстановительном процессе при использовании пролактина (экспериментальное исследование)» посвящена решению актуальной фундаментальной и прикладной биомедицинской проблемы – разработке методов регуляции и коррекции репаративного посттравматического морфогенеза соединительно тканной основы кожи и является логическим продолжением работ сотрудников Иркутского медицинского университета, представителей школы профессора В.Г. Изатулина по исследованию морфологии воспалительно-репаративных процессов, в том числе влияния на эти процессы гормона пролактина.

Целью диссертации автор определила выявление особенностей морфогенеза соединительной ткани кожи в восстановительном процессе при использовании пролактина. В соответствии с целью сформулированы задачи: изучение в эксперименте морфофункциональных изменений структуры кожи

в динамике восстановительного процесса; выявление в эксперименте изменений соединительнотканых элементов кожи при внутримышечном введении пролактина; определение особенностей морфофункциональных изменений структуры кожи в условиях местного применения пролактина; проведение сравнительного анализа полученных результатов и определение условий оптимизации восстановительного процесса в коже с целью достижения выраженного косметического эффекта и формирования его оптимальных биомеханических свойств.

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

Положения, выносимые автором на защиту, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, полностью обоснованы результатами исследований и соответствуют цели и задачам диссертации.

Достоверность и научная новизна полученных автором результатов

Диссертация построена по классическому типу, изложена на 150 страницах компьютерного текста и состоит из введения, 5 глав, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литератур, списка иллюстративного материала.

Во введении убедительно обоснована актуальность работы, сформулирована цель и задачи диссертации, изложены положения, выносимые на защиту, теоретическая и научная значимость, практические рекомендации.

Глава 1 «Морфология раневого воспаления и заживления ран (обзор литературы)» изложена на 25 страницах. В обзоре проведен подробный анализ современных данных литературы по вопросам, касающимся развития раневого воспаления, коллагеногенеза и эпителизации ран, формирования и ремоделирования рубца, природы и механизмов действия пролактина. При написании обзора использовано 154 отечественных и 68 зарубежных

источников, из которых 20% опубликованы в течение последних 10 лет. Обзор литературы дает полное представление о современном состоянии проблемы.

Глава 2 «Материал и методы исследования». Работа выполнена на 205 самцах белых беспородных крыс, у которых в условиях анестезии моделировался воспалительно-репаративный процесс в коже посредством нанесения электрокоагулятором однотипных субдермальных кожных ран в межлопаточной области с последующим введением в организм животного гормона пролактина либо однократными инъекциями в течение 7 суток раствора пролактина (препарат Лактин) в дозе 25 ед/кг, либо аппликацией на раневую поверхность в течение 7 суток 5% пролактина на гелевой основе (гель Лактин). Контролем служили животные, которым внутримышечно вводили 0,5 мл физраствора. Эксперимент длился 6 месяцев, при этом материал для исследования забирался на сроках от 2 часов до 180 суток.

Фактический материал (кровь, кожа из области раневой поверхности), полученный от экспериментальных животных, обработан с использованием гистологических, биохимических, биомеханических, статистических методов научного анализа.

Макроскопически оценивали характер заживления и формирование рубцов кожи по выраженности перифокального воспаления, скорости формирования грануляционной ткани, характеру и срокам эпителизации раневой поверхности, степени васкуляризации и типу рубца. Для проведения микроскопического исследования кожа из зоны раневого дефекта подвергнута стандартной гистологической обработке с последующим изготовлением парафиновых срезов, которые окрашивались обзорными методиками и методиками для выявления компонентов соединительной ткани (пикрофуксином по Ван-Гизон, 1962, пикрофуксином по М. К. Васильцову, 1971), подвергались световой микроскопии и морфометрии. Оценивалось состояние сосудистого компонента и гемодинамики парараневой зоны. Определялось количество, размеры, скорость миграции и показатели дегрануляции тучных клеток в периферической зоне очага воспаления и

рубцовой ткани, определяли количество лейкоцитов, макрофагов и фибробластов в расчете на 1 мм³. Динамика воспалительно-репаративного процесса оценивалась по продолжительности фаз, активности микроциркуляторного русла, миграционной активности тучных клеток и лейкоцитов, динамике изменения нейтрофилов, мононуклеаров, макрофагов, пролиферативной активности фибробластов, интенсивности процесса коллагенообразования, формированию демаркационного вала, скорости удаления детрита из раны, формированию эпидермального регенерата, степень и скорость дифференцировки слоев эпидермиса, зрелости грануляционной ткани, содержанию в рубце клеток, сосудов и волокон.

По оригинальной методике профессора М.К. Васильцова определялся уровень гидратации кожи в зоне раневой поверхности, также исследовались биомеханические свойства сформированного рубца. Биохимически в крови определяли уровень пролактина и кортикостерона.

Результаты метрических исследований обработаны методами статистического анализа.

В главе 3 «Изменение соединительнотканых элементов кожи при заживлении ее ран» описаны структурные изменения кожи и динамика содержания пролактина в плазме крови в ходе воспалительного процесса у животных, которым на фоне травмы внутримышечно вводился физиологический раствор. Показано, что у животных данной группы формирование нормотрофического рубца происходит в 60 % наблюдений.

Глава 4 «Изменения соединительнотканых элементов кожи при заживлении ее раны, проходящее на фоне внутримышечного введения пролактина». Автором показано, что внутримышечное введение животным в течение 7 суток раствора пролактина в дозе 25 ед/кг обуславливает, в сравнении с животными 1 группы, уменьшение повреждения клеток, межклеточного вещества и сосудов в парараневой зоне, повышение функциональной активности лейкоцитов и макрофагов в зоне воспаления, усиление пролиферации, дифференцировки и функциональной активности

фибробластов, коллагеногенеза. Выявлено, что сформированный рубец кожи по уровню васкуляризации, содержанию клеток и межклеточного вещества, биомеханическим свойствам в наибольшей степени соответствует соединительной ткани интактной кожи. В 70 % наблюдений формируется рубец нормотрофического типа.

Глава 5 «Изменение соединительнотканых элементов кожи при местном применении пролактина для заживления ее ран». В главе описаны структурные изменения в коже, изменения гормонального статуса после травмы у животных на фоне аппликаций на раневую поверхность 5% геля пролактина. Показано, что пролактин при наложении на рану обладает антиальтерационным эффектом по отношению к клеткам и межклеточному веществу соединительной ткани дермы коды, оказывает позитивное воздействие на процесс заживления, что обеспечивает сокращение сроков заживления и формирование в 100 % случаев наблюдений нормотрофических рубцов, которые по структурным и биомеханическим характеристикам максимально схожи со свойствами неповрежденной кожи.

Обсуждение полученных результатов проведено квалифицированно, результаты собственных исследований автор сопоставила с имеющимися данными литературы отечественной и зарубежной литературы.

Таким образом, результаты работы достоверны, поскольку исследования выполнены на достаточном количестве лабораторных животных. Фактический материал обработан автором с использованием адекватных цели и задачам диссертации комплекса современных объективных методов научного анализа.

В результате проведенных исследований автором получены данные, характеризующиеся очевидной научной новизной, касающиеся влияния гормона пролактина на процессы репаративной регенерации кожи после электро-термической субдермальной травмы. Впервые показано стимулирующее влияния на репаративную регенерацию кожи аппликаций геля гормона пролактина на раневую поверхность. Впервые установлен

протективный эффект гормона пролактина при местном применении по отношению к клеткам соединительной ткани дермы кожи в условиях посттравматической регенерации, что обуславливает оптимальное течение восстановительного процесса и формирование нормотрофического рубца. Впервые выявлено, что пролактин обладает оптимизирующим влиянием на восстановительный процесс в дерме, воздействуя на микроциркуляторное русло, волокна соединительной ткани, эпителий.

По результатам исследований автором сделано 5 обоснованных выводов, которые полностью соответствуют цели и задачам диссертации.

Диссертация написана грамотным профессиональным языком, иллюстрирована 19 таблицами и 34 рисунками: графиками и микрофотограммами хорошего качества.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Результаты диссертации широко представлены научному профессиональному сообществу в форме докладов на научных конференциях и опубликованы в научной печати, в том числе 5 полнотекстовых статей в российских рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

На основании знакомства с диссертацией возникло несколько вопросов:

1. На страница 10, в последнем абзаце автор пишет: «Ауторегуляция этой реакции осуществляется на разных уровнях – от гистона до организменного (рисунок 1)».

Вопрос: Что имел в виду автор под термином гистон?

2. На странице 25, в последнем абзаце автор пишет: «Причем активация синтеза белка наблюдается как в цитоплазме клеток, так и в ядре (Шехтер А. Б. с соавт., 1984; Жукова О. В. с соавт., 2009; Зорина А. И. с соавт., 2011)».

Вопрос: Что имел в виду автор, говоря об активации синтеза белка в ядре?

3. Вопрос: Какое количество гормона пролактина поступало в организм

животного 2 и 3 групп при внутримышечном и местном применении, сравнимы ли эти величины?

4. На странице 43 автор пишет: «Эпидермоциты у краев раны утрачивают способность к дифференцировке и приобретают вертикальную анизоморфность».

Вопрос: Какие клетки приобретают вертикальную анизоморфность и может ли эпителиальная клетка приобрести анизоморфность?

5. На странице 61 автор пишет: «Одновременно отмечается изменение калибра и площади тучных клеток».

Что такое калибр тучных клеток?

6. На странице 96 автор пишет « ... Локальная гиперпролактинемия стимулирует клеточные реакции (миграцию лейкоцитов, формирование лейкоцитарного вала, функциональную активность лейкоцитов, макрофагов и фибробластов). ...»

Вопрос: Возможна ли локальная гиперпролактинемия?

Заданные вопросы носят дискуссионный характер и не снижают высокой оценки диссертации.

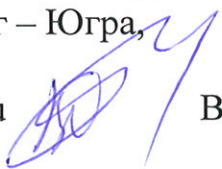
Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным в п.9 Положения о присуждении ученых степеней

На основании выше изложенного считаю, что диссертация «Закономерности изменений соединительной ткани кожи в восстановительном процессе при использовании пролактина (экспериментальное исследование)» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи – обосновано применение гормона пролактина в качестве способа регуляции и коррекции репаративного посттравматического морфогенеза соединительно-тканной основы кожи после экспериментальной электро-термической травмы. Диссертация полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям п. 9 «Положения о присуждении ученых

степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842, а автор Кенсовская Инна Михайловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

16 марта 2015 года

Янин Владимир Леонидович, доктор медицинских наук
(03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология),
профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии
бюджетного учреждения высшего образования
Ханты-Мансийского автономного округа – Югра
«Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»,
628011, Ханты-Мансийский автономный округ – Югра,
г.Ханты-Мансийск, ул. Мира, д. 40,
телефон: 89224074087; e-mail: yanin_v@mail.ru

 В.Л. Янин

Подпись профессора В.Л. Янина заверяю
ученый секретарь ученого совета
бюджетного учреждения высшего образования
Ханты-Мансийского автономного округа – Югра
«Ханты-Мансийская государственная
медицинская академия», к.б.н.

 Т.Н. Соколова

