

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи Медицинской академии имени С.И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Михайличенко Вячеслава Юрьевича на диссертационную работу Сергеевой Юлии Анатольевны «Экспериментальное обоснование использования D-аспарагина для подготовки реципиентной зоны к липофилингу», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 3.3.3 – патологическая физиология.

Актуальность избранной темы исследования

Внешний вид оказывает существенное влияние на социальное благополучие, адаптацию в обществе и качество жизни человека.

Рубцы оказывают огромное физиологическое и психологическое воздействие на пациентов. Возникновение грубых рубцов часто приводит к развитию нервно-психических расстройств, вплоть до случаев тяжелой депрессии, а также ассоциировано с ростом частоты постоянной нетрудоспособности.

Профилактика развития патологических рубцов кожи (при хирургических вмешательствах) и их лечение (коррекция) рубцов представляет собой важную медико-социальную проблему.

Подсчитано, что каждый год у 100 миллионов человек по всему миру появляются кожные рубцы после травм и хирургических вмешательств, и 15 миллионов из них будут иметь неэстетические или гипертрофические и келоидные рубцы.

Распространённость гипертрофических и келоидных рубцов кожи в общей популяции довольно высока и составляет от 4,5 до 16% в разных регионах мира.

Липофилинг является одним из перспективных методов коррекции рубцовых дефектов кожи различного происхождения. Применение липофилинга для лечения рубцов способствует восстановлению структуры

дермы и подкожной жировой клетчатки в зоне их локализации, за счет чего достигается улучшение эстетики кожи.

Несмотря на наличие множества работ подтверждающих позитивное влияние липофилинга при лечении кожных рубцов, существуют единичные исследования, в ходе которых не удалось доказать его эффективность. В случае липофилинга на рубцовой ткани, его относительно низкая эффективность лимитирована прежде всего недостаточным уровнем кровоснабжения, что обуславливает необходимость разработки новых способов подготовки реципиентной зоны.

Многообещающим способом подготовки реципиентной зоны с целью последующего применения липофилинга для лечения гипертрофических и келоидных рубцов может стать использование препаратов с антипролиферативной активностью, таких как, 5-фторурацил, митомицин С, блеомицин, метотрексат, глюкокортикоиды, интерфероны.

В отличие от вышеуказанных препаратов D-аспарагин, является естественным метаболитом в организме млекопитающих, при этом обладая антипролиферативной активностью, имеет более благоприятный профиль безопасности, что показывает потенциал данной молекулы в качестве основы для разработки нового класса противорубцовых препаратов.

Учитывая все вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что диссертационное исследование Ю.А.Сергеевой является актуальным, своевременным, оригинальным, затрагивающим важные проблемы современной патологической физиологии.

Степень достоверности и новизны результатов исследования обосновывается использованием современных, информативных и адекватных поставленной цели и задачам методов исследования. Объем экспериментального материала включает достаточное количество наблюдений на лабораторных животных (60 крыс), фотографии гистологических и иммуногистохимических микропрепаратов кожи крысы, а также фотографии цитологических и иммуноцитохимических

микропрепаратов культуры дермальных фибробластов человека; копии и рефераты изученных литературных источников – 285 шт.; оттиски опубликованных работ – 9 шт.

Достоверность результатов исследования подтверждается сопоставлением и сравнительной оценкой полученного материала диссертации с данными зарубежных и российских исследований, а также публикацией основных положений диссертационной работы в рецензируемых изданиях и достаточно широким обсуждением на общероссийских и международных научно-практических конференциях.

Новизна результатов диссертационного исследования определяется тем, что автором впервые показано снижение толщины эпидермиса и дермы, а также восстановление структуры кожи в зоне патологического кожного рубца при использовании D-аспарагина для подготовки реципиентной зоны к проведению липофилинга. Достигнутые результаты сопровождаются снижением степени резорбции липографта, а также уменьшением выраженности фиброза и хронического воспаления, повышением плотности капиллярной сети в зоне введения липоасpirата. При проведении культуральных исследований на первичной культуре дермальных фибробластов человека автором показано, что D-аспарагин, при воздействии в течение 2-6 часов в концентрации 0,013 и 0,13 г/л стимулирует пролиферативную активность первичной культуры дермальных фибробластов человека, а при 24-48 часовой экспозиции оказывает антипролиферативный эффект. При этом антипролиферативное действие D-аспарагина в концентрации 0,13 г/л при 24-48 часовой экспозиции приводит к значительному изменению морфологии дермальных фибробластов человека.

Полученные результаты дополняют современные представления о биологической роли D-аминокислот в организме млекопитающих и человека, в части влияния D-аспарагина на пролиферацию дермальных фибробластов, течение раневого процесса, эпителизацию, ремоделирование раневых поверхностей, рубцеобразование.

Степень обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации, подтверждается достаточным объёмом выполненных экспериментальных исследований и полученных лабораторных данных, использованием в работе широкого спектра современных методов исследования позволяющих эффективно решить поставленные задачи, адекватной статистической обработкой полученных данных с использованием специализированного современного программного обеспечения, наличием достаточного количества отечественных и зарубежных литературных источников при составлении литературно-библиографической справки.

Введение дает полное и достаточно информативное представление об актуальности рецензируемой работы. В нем четко сформулирована цель и подробно расписаны задачи исследования, наглядно представлена научная новизна, имеются развернутые данные о ценности работы для фундаментальной науки и ее практической значимости. В целом, ознакомившись с введением, можно заключить, что автором аргументировано и грамотно сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, приведены основные положения, выносимые на защиту, отмечен личный вклад и апробация результатов исследования.

В главе 1 (обзоре литературы), состоящей из 3 разделов автором приведена характеристика липофилинга как метода лечения кожных рубцов, подробно рассмотрены данные литературы о биологической роли и метаболизме D-аспартата и D-аспарагина, а также проанализированы возможные механизмы, опосредующие влияние D-аспартата и D-аспарагина на пролиферативную активность клеток млекопитающих.

Глава 2 (Методология и методы исследования) содержит детальное описание объекта и методов исследования, раскрывает методические особенности работы с культурой дермальных фибробластов человека, лабораторными животными и полученным биоматериалом, статистической обработки полученных результатов.

Глава 3 посвящена изложению результатов исследования, полученных автором в ходе выполнения экспериментального раздела работы на культуре дермальных фибробластов человека и на лабораторных животных.

В 4-й главе автор проводит сопоставление собственных результатов полученных при помощи разных методов, использованных в данной работе и описанных в главе 2, их обобщение и трактовку с учетом актуальных литературных данных. Раскрывает наиболее вероятные механизмы наблюдаемых явлений. В заключении приводится обобщение полученных результатов.

Научная и практическая значимость результатов исследования, а также конкретные рекомендации по их использованию

Диссертация Ю.А.Сергеевой имеет несомненно большое научное значение. Использованные подходы автора имеют существенные отличия от опубликованных в литературе, дополняют и расширяют современные представления о биологической роли D-аминокислот в организме млекопитающих и человека, в части влияния D-аспарагина на пролиферативную активность дермальных фибробластов человека, течение раневого процесса, эпителизацию и ремоделирование раневых поверхностей. Учитывая результаты культуральной части исследования, становится очевидным, что помимо опосредованного через воздействие на глутаматные рецепторы, у D-аспартата и D-аспарагина могут быть и иные механизмы влияния на пролиферативную активность клеток. Так как, D-аспартат и D-аспарагин являются оптическими изомерами L-аспартата и L-аспарагина (протеиногенные аминокислоты), то не исключается их влияние на трансляцию белка, конкуренция за места связывания и ингибирование ферментов участвующих в обмене их L-форм, посттрансляционная модификация и изменение функционирования структурных белков, рецепторов, ферментов. Учитывая факт возможного влияния данных D-аминокислот на процессы трансляции, недавние открытия глутаматных

рецепторов на периферии, а также интегративную роль нейроиммунноэндокринной регуляции и влияние на нее D-аспартата можно выдвинуть гипотезу о возможном наличии влияния D-аспартата и D-аспарагина на жизнедеятельность и, как следствие, пролиферативную активность практически всех типов соматических клеток млекопитающих. В связи с чем, представляет интерес изучение роли D-аспартата и D-аспарагина в патофизиологии раневого процесса.

В результате проведенных исследований автор сформулировала ряд важных в теоретическом и практическом отношении положений, которые сводятся к следующему:

1. Толщина эпидермиса, по результатам морфометрии зоны дермального рубца через 63 дня (2 месяца) после проведения липофилинга, при использовании D-аспарагина для подготовки реципиентной зоны на модели дермального рубца была на 44,4% ($p=0,000017$) меньше, чем в группе сравнения и на 28,57% ($p=0,0032$) меньше, чем при изолированном применении липофилинга в контрольной группе.
2. Толщина дермы, по результатам морфометрии зоны дермального рубца через 63 дня (2 месяца) после проведения липофилинга, при использовании D-аспарагина для подготовки реципиентной зоны на модели дермального рубца была на 23% ($p=0,000067$) меньше, чем в группе сравнения и на 5,9% ($p=0,0038$) меньше, чем при изолированном применении липофилинга в контрольной группе.
3. По данным иммуногистохимического исследования кожи в зоне проведения липофилинга на модели дермального рубца установлено, что в опытной группе (с D-аспарагином), в сравнении с группами сравнения и контрольной, снижена экспрессия коллагена 1, виментина и AIF-1 и повышена экспрессия фактора фон Виллебранда и АРМАР. Это позволяет утверждать, что предварительная подготовка реципиентной зоны D-аспарагином повышает активность ангиогенеза и выживаемость липоаспирата, а также снижает выраженность фиброза и воспалительной реакции в зоне

окружающей липографт.

4. D-аспарагин, при воздействии в течение 2-6 часов в концентрации 0,013 и 0,13 г/л, стимулирует пролиферативную активность культуры дермальных фибробластов человека. При 24-48 часовой экспозиции D-аспарагин подавляет пролиферативную активность первичной культуры дермальных фибробластов человека. При этом антипролиферативное действие D-аспарагина в концентрации 0,13 г/л при 24-48 часовой экспозиции приводит к значительному изменению морфологии дермальных фибробластов человека, указывая на его выраженное токсическое действие при данном режиме применения.

Анализ полученного материала может быть использован для продолжения научно обоснованного поиска новых противорубцовых средств, а также для улучшения результатов липофилинга в условиях его последующего применения для лечения повреждений с высоким риском развития фиброза.

Материалы исследования также целесообразно использовать в учебном процессе кафедр общей и клинической патологической физиологии, биологии с курсом медицинской генетики, кафедры фундаментальной и клинической биохимии.

Степень завершенности исследования в целом и качество оформления диссертации. Диссертация построена по традиционной схеме, изложена на 148 страницах машинописного текста, иллюстрирована 29 рисунками, 14 таблицами, включает 5 приложений. Работа логично построена, читается с интересом. Таблицы и диаграммы составлены правильно, способствуют восприятию содержания рукописи. Библиографический список включает 285 источников, из них 13 отечественных, 272 зарубежных. Основные положения диссертации, выносимые на защиту, аргументировано опираются на корректно сформулированные 6 выводов и 4 практических рекомендации.

Полнота опубликования результатов исследования и соответствие автореферата основным положениям диссертации

По теме диссертационного исследования опубликовано 9 печатных работ, из них 6 опубликовано в изданиях, включённых в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук и издания, приравненные к ним. По результатам проведенной исследовательской работы получено 2 патента РФ на изобретение.

Автореферат и научные публикации в полной мере отражают основные научные факты, выводы и положения, представленные в диссертации. Содержание автореферата дает полное представление о проделанной работе, содержит в кратком виде всю необходимую информацию, характеризующую полученные в процессе исследования результаты, основные положения и выводы.

Отрицательная сторона работы.

В представленном для оппонирования экземпляре диссертации имеются отдельные опечатки, стилистические неточности, несколько усложняющие восприятие изложенного материала, которые, в целом, не уменьшают научной и практической значимости проведенного исследования и не отражаются на общей положительной оценке работы.

В ходе оппонирования диссертационной работы, возникли некоторые дискуссионные вопросы, на которые хотелось получить ответ:

1. Главным триггером превращение стволовых и жировых клеток в фибробласты и рубцовую ткань, является гипоксия. Как вы считаете за счет чего предотвращается этот механизм при липофилинге?


2. Какие главные факторы в модифицированной вами методике липофилинга играют роль в ремоделировании рубца?


3.Какова на ваш взгляд перспектива использования факторов роста сосудов при липофилинге?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Юлии Анатольевны Сергеевой «Экспериментальное обоснование использования D-аспарагина для подготовки реципиентной зоны к липофилингу», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология, по своей форме и научному содержанию соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. № 842, с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 355 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней» предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Ю.А.Сергеева заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», заведующий хирургическим отделением №2 Клинического медицинского многопрофильного центра Святителя Луки Федерального Государственного Автономного Образовательного Учреждения Высшего Образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», лауреат Государственной премии Украины в области науки и техники, доктор медицинских наук,
профессор  Михайличенко Вячеслав Юрьевич

Даю согласие на автоматизированную обработку персональных данных Михайличенко Вячеслав Юрьевич 

Подпись профессора Михайличенко В.Ю. заверяю:

Проректор по научной деятельности ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского», доктор медицинских наук, профессор Кубышкин А.В. 

295007, г. Симферополь, проспект Академика Вернадского, 4, тел.: 8 (978) 971-88-28, cf_university@mail.ru

08.11.2021



СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте диссертации Сергеевой Юлии Анатольевны на тему «Экспериментальное обоснование использования Д-аспарагина для подготовки реципиентной зоны к липофилингу», по специальности 3.3.3. – Патологическая физиология, представленной для защиты в диссертационный совет 21.2.014.01 (21.2.014.02), действующий на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (350063 г. Краснодар, улица Митрофана Седина, дом 4, т. (861)26273), адрес электронной почты: soprus@kasma.kubanet.ru; адрес официального сайта в сети «Интернет»: <http://www.kasma.ru>)

№	Фамилия Имя Отчество (должность в диссертационном совете)	Год рождения, гражданство	Место основной работы (название организации, ведомство, город, занимаемая должность)	Учёная степень (шифр специальности, по которой присуждена учёная степень в соответствии с действующей Номенклатурой специальностей научных работников)	Учёное звание	Шифр специальности (отрасли науки) в диссертационном совете (с указанием отраслей; соответствующего периода; отраслей и сфер деятельности)
1	2	3	4	5	6	7
1	Михайличенко Вячеслав Юрьевич	Российская Федерация	Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО, заведующий кафедрой	доктор медицинских наук 3.3.3 - патологическая физиология	профессор по кафедре хирургии	3.3.3. – патологическая физиология, медицинские науки

Данные о научной деятельности по заявленной специальности за 5 лет:

а) Перечень научных публикаций в изданиях, индексируемых в международных цитатно-аналитических базах данных Web of Science и Scopus, а

1. Mukhaulichenko V.Y. Experimental induction of reparative morphogenesis and adaptive reserves in the ischemic myocardium using multipotent mesenchymal bone marrow-derived stem cells / Mukhaulichenko V.Y., Kubyshekin A.V., Fomochkina I.I., Anisimova L.V., Samarin S.A. // *Pathophysiology*. 2016. Т. 23. № 2. С. 95-104.

<p>такж в специализированных профессиональных базах данных Astrophysics, PubMed, Mathematics, Chemical Abstracts, Springer, Aggris, Georef, MathSciNet, BioOne, Compendex, CiteSeerX.</p>	<p>2. Михайличенко В.Ю. Индукция репаративного морфогенеза и адаптационных резервов в ишемизированном миокарде при использовании мультитипотентных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга различного фенотипа в эксперименте / Михайличенко В.Ю., Самарин С.А. // Гены и Клетки. 2019. Т. 14. № 5. С. 153-154 (импакт-фактор 0,265).</p> <p>3. Штугин А.А. Особенности пластического закрытия раневых дефектов дистальных отделов нижних конечностей суральным лоскутом / Штугин А.А., Михайличенко В.Ю., Штугин И.А., Самарин С.А. // Пластическая хирургия и эстетическая медицина 2021, №1, с. 52-57 https://doi.org/10.17116/plast.hirurgia202101152 (импакт-фактор 0,082).</p> <p>4. Mikhailichenko V.Yu. Content of primaru and secondary lipid peroxidation products in subcellular fractions of cardiomyocytes during myocardial infarction in rats in an experiment and their correction by transplantation of mesenchymal stem cells / Mikhailichenko V.Yu., Pilirchuk A., Parshin D.S., Kostyamin Yu. // Archiv EuroMedica. 2021. T. 11. № 4. C. 89-92.</p>
<p>б) Перечень научных публикаций в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук, с указанием степени доктора наук, с указанием импакт-фактора журнала на основании данных библиографической базы данных научных публикаций российской учёных - Российскому индексу научного цитирования (РИНЦ). (Указать выходные данные)</p>	<p>1. Есыкова А.Ю. Гистологические и иммуногистохимические особенности регенерации резаных ран под действием фермента трансглутаминазы в эксперименте / Есыкова А.Ю., Михайличенко В.Ю., Фомочкина И.И., Голубинская Е.П., Бессалова Е.Ю. // Таврический медицинско-биологический вестник. 2018. Т. 21. № 1. С. 56-62. (импакт-фактор 0,046).</p> <p>2. Михайличенко В.Ю. Патологические аспекты липидного и фосфолипидного обмена у крыс при инфаркте миокарда и сахарном диабете / Михайличенко В.Ю., Пилипчук А.А., Самарин С.А. // Современные проблемы науки и образования.-2018.-№1.-С.. (импакт-фактор 0,195)</p> <p>3. Топчиев М.А. Возможность использования дезпителизированной аутодермального трансплантата в хирургии послеоперационных вентральных грыж / Топчиев М.А., Паршин Д.С., Михайличенко В.Ю., Нурмагомедов А.Г., Топчиев А.М., Кузьмина // Вестник хирургической гастроэнтерологии. 2018. № 2. С. 62-65.</p> <p>4. Михайличенко В.Ю. Патогизиологическое обоснование эффективности антиангиогенной терапии при окклюзии вен сетчатки по данным когерентной</p>

	<p>томографии глаза / Михайличенко В.Ю., Иващенко А.С., Самарин С.А., Волик С.А. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2018. – №5. – С.108-114. (импакт-фактор 0,092).</p> <p>5. Штутин А.А. Пластика глубоких раневых дефектов конечностей лоскутами с осевым типом кровоснабжения / Штутин А.А., Михайличенко В.Ю., Штутин И.А. // Медицинский вестник МВД.-2020.-№4.-С.17-22 (импакт-фактор 0,042).</p>
<p>в) Общее число ссылок на публикации в РИНЦ</p>	<p>254</p>
<p>г) Участие с приглашёнными докладами на международных конференциях. (Указать тему доклада, а также название, дату и место проведения конференции)</p>	<p>-</p>
<p>д) Рецензируемые монографии по тематике, отвечающей заявленной научной специальности. (Указать выходные данные, тираж)</p>	<p>1. Клинико-экспериментальное обоснование возможности применения клеточной терапии при различной патологии / Михайличенко В.Ю., Попандопуло А.Г., Буше В.В.// Монография. Донецк-Симферополь, 2020. ISBN 978-5-6043926-2-1 Том 1, 516 стр.</p> <p>2. Клинико-экспериментальное обоснование возможности применения клеточной терапии при различной патологии / Михайличенко В.Ю., Попандопуло А.Г., Буше В.В.// Монография. Донецк-Симферополь, 2020. ISBN 978-5-6043926-3-8 Том 2, 350 стр.</p>
<p>е) Препринты, размещённые в международных исследовательских сетях. (Указать электронный адрес размещения материалов)</p>	<p>Нет</p>

*Заведующий кафедрой общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи Института
«Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», заведующий Хирургическим отделением №2 Клинического
медицинского многопрофильного центра Святителя Луки ФЛАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» Министерства*

