

УТВЕРЖДАЮ:

Директор  
Автономной научной  
некоммерческой организации  
высшего образования научно-  
исследовательский центр  
"Санкт-Петербургский институт  
биорегуляции и геронтологии  
з.д.н. РФ, член-корр. РАН,  
доктор медицинских наук, профессор

В.Х. Хавинсон

11 февраля 2021 г.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Автономной научной некоммерческой организации  
высшего образования научно-исследовательский центр  
«Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»**

Диссертация «Влияние пептидов на фибробласты кожи человека при репликативном старении» выполнена в лаборатории молекулярных механизмов старения отдела биogerонтологии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

В период подготовки диссертации и по настоящее время соискатель Фридман Наталья Владимировна работает в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» в лаборатории молекулярных механизмов старения научным сотрудником. Н.В. Фридман в 1999 г. окончила Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет академика И.П. Павлова по специальности «лечебное дело».

Н.В. Фридман является соискателем АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» без окончания аспирантуры. Справка о сдаче кандидатских экзаменов №65 от 25.12.2020 г. выдана в ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». Научный руководитель: д.б.н., доцент Линькова Наталья Сергеевна – руководитель лаборатории молекулярных механизмов старения отдела биogerонтологии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии». Научный консультант: д.м.н., профессор Трофимова Светлана Владиславовна – заместитель директора АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» по научной работе.

По итогам обсуждения диссертации Фридман Натальи Владимировны «Влияние пептидов на фибробласты кожи человека при репликативном старении» принято следующее заключение.

Представленная диссертационная работа Фридман Натальи Владимировны состоит из введения, содержащего актуальность проведенной работы, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждений, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Текст диссертации изложен на 113 страницах, иллюстрирован 23 рисунками. Список литературы содержит 166 источников, из них на русском языке — 26, на английском — 140.

Диссертационная работа Н.В. Фридман выполнена на высоком научном уровне с использованием современных экспериментальных методов.

Все результаты, представленные в диссертации, получены при непосредственном участии автора.

**Личный вклад автора** в диссертационное исследование состоял в разработке дизайна исследования, проведении экспериментов, статистической обработке и анализе данных. Автор принимала участие во всех исследованиях, включавших в себя культивирование дермальных фибробластов, иммунофлуоресцентное окрашивание, лазерную сканирующую конфокальную микроскопию, морфометрию. Автор также принимала участие в анализе данных, статистической обработке полученных результатов исследования, написании статей, тезисов, выступлениях с докладами на международных и отечественных конференциях.

**Актуальность.** По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире с каждым годом увеличивается число людей пожилого и старческого возраста. В Санкт-Петербурге с 1990 по 2005 г. доля населения старше трудоспособного возраста выросла на 14,5%. В Российской Федерации ожидается значительное увеличение численности населения в возрасте 60 лет и старше в предстоящее десятилетие: до 30,8 млн человек в 2025 г. и до 36,2 млн в 2050 г.

Частота обращений пациентов пожилого возраста к врачам растет. Не исключением является и обращение лиц старше 60 лет к дерматологам-косметологам, что еще 10–15 лет назад было редкостью. В настоящее время люди этой возрастной категории все чаще ведут активную социальную жизнь, востребованы на работе и в семье, занимаются спортом. Желание быть полноценными участниками событий современного общества закономерно приводит к стремлению вести здоровый образ жизни и привлекательно выглядеть. Результатом этого является визит к специалисту косметологического профиля. Правильный выбор процедуры с учетом возрастных особенностей является залогом не только привлекательной внешности, но и улучшения качества жизни. Необходимость коррекции не только видимого старения кожи, но и патологических процессов,

развивающихся в организме в целом, позволяет рассматривать кожу как часть стареющего организма.

Известно, что старение характеризуется накоплением макромолекулярных повреждений, нарушением обновления тканей и прогрессирующей потерей физиологической целостности. Одним из таких признаков является клеточное старение, которое активируется различными внутренними (укорочением теломер, избыточным производством активных форм кислорода (АФК)) и внешними (УФ-излучение, недостаток питательных веществ, воспаление) стимулами, ведущими к остановке клеточного роста и специфическим фенотипическим изменениям. Выделяют естественное и ускоренное старение кожи, обусловленные соответственно внутренними и внешними стимулами. Как при естественном, так и при ускоренном старении кожи в патогенез этого процесса вовлечено большое количество различных клеточных и молекулярных факторов, основными из которых являются компоненты внеклеточного матрикса (коллаген, эластин, гликопротеины), транскрипционные факторы (p16, p53, p63, NF-κB), матриксные металлопротеиназы, цитокины, регуляторы окислительно-восстановительного баланса. Основным типом клеток, обеспечивающих метаболизм в коже, являются фибробласты. В них происходит синтез коллагена, выработка факторов роста, регуляция продукции провоспалительных цитокинов. При старении секреторный фенотип фибробластов изменяется, снижается способность синтезировать коллаген и эластин, что приводит к проявлению внешних признаков старения кожи. Таким образом, целесообразным является поиск веществ, способных осуществлять регуляцию физиологической активности фибробластов кожи и предотвращать их преждевременное старение.

В настоящее время в геронтокосметологии возрастает интерес к препаратам, содержащим в своем составе пептиды или их комплексы. Выделяют сигнальные пептиды, энзимные ингибиторы, нейротрансмиттерные ингибиторы и транспортные пептиды. Короткие ди- и трипептиды, разработанные в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии, обладают тканеспецифическим и иммуномодулирующим действием, благодаря чему их возможно применять при различных патологических процессах, в том числе при преждевременном старении кожи. Пептиды AED и KE демонстрировали пролиферативное (повышение синтеза белка Ki67) и антиапоптотическое (снижение синтеза каспазы-3) действие в культурах фибробластов кожи при репликативном старении. Добавление этих пептидов в культуру фибробластов кожи приводило к повышению их функциональной активности путем стимуляции экспрессии фактора CD98hc. Пептид KE обладает иммуномодулирующим действием, восстанавливая баланс про- и противовоспалительных цитокинов в моделях *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, *in silico* пептид KE демонстрирует высокую степень связывания с двуцепочечной ДНК, что позволяет предположить наличие эпигенетического механизма регуляции экспрессии генов короткими

пептидами. В связи с наличием большого количества литературных данных, свидетельствующих о возможности пептидов AED и KE регулировать функциональную активность клеток, актуальным является изучение их влияния на репликативное старение фибробластов кожи человека.

**Научная новизна.** При репликативном старении фибробластов кожи человека в них снижается экспрессия сиртуинов 1, 6, что свидетельствует о снижении активности системы репарации ДНК и антиоксидантной функции клеток. Показано, что при старении фибробластов кожи в них снижается синтез коллагена и повышается экспрессия матриксной металлопротеиназы-1, что является одним из ключевых факторов, способствующих визуальному проявлению старения этой ткани. Впервые установлено, что при старении фибробластов дермы человека в них повышается экспрессия фермента СОХ-2 и фактора роста TGF- $\beta$ . Впервые показано, что при старении фибробластов кожи повышается синтез провоспалительных цитокинов IL-1 и NF- $\kappa$ B, что согласуется с теорией развития inflamm-aging (ограниченного слабо выраженного воспалительного процесса). В работе впервые доказана способность пептидов AED и KE замедлять процесс репликативного старения дермальных фибробластов. Этот эффект достигается пептидной регуляцией синтеза цитокинов, транскрипционных факторов, факторов роста и регуляторов окислительно-восстановительного баланса. Установлено, что пептид KE предотвращает воспалительные процессы, возникающие при репликативном старении фибробластов кожи человека. Это выражается в снижении экспрессии цитокина IL-1 и транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B в фибробластах кожи при действии пептида KE. Установлено, что пептид AED активирует синтез коллагена I типа и ингибирует экспрессию MMP1. Впервые показано, что при репликативном старении фибробластов кожи человека пептиды KE и AED обладают антиоксидантным (регуляция синтеза фермента СОХ-2) и геропротекторным действием (регуляция синтеза сиртуинов 1 и 6).

**Практическая значимость.** Исследование влияния пептидов AED и KE на репликативное старение дермальных фибробластов *in vitro* позволило установить, что изученные пептиды могут оказывать геропротекторное, противовоспалительное и антиоксидантное действие. Пептиды AED и KE регулируют синтез гистоновых деацетилаз SIRT1, 6, участвующих в репарации ДНК и влияющих на продолжительность жизни. Пептид AED снижает синтез фермента MMP1, способствующего гидролизу белков межклеточного матрикса, в том числе коллагена и эластина. Поскольку повышенное разрушение этих белков наблюдается при старении не только дермы, но и соединительной ткани, расположенной в других органах, это указывает на геропротекторный эффект пептида AED в отношении соединительной ткани. Антиоксидантное действие пептидов AED и KE, выражающееся в регуляции синтеза фермента СОХ-2, играет важную роль в поддержании функций дермы при ее естественном и стресс-индуцированном старении.

**Достоверность полученных результатов** подтверждается корректной, общепринятой статистической обработкой результатов экспериментальных измерений, а также положительными результатами практического использования данных, представленных в настоящем диссертационном исследовании.

**Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.** По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования материалов диссертационных исследований, 1 глава в монографии, 5 тезисов докладов. Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Молекулярные аспекты геропротекторного действия пептида KE в культуре фибробластов кожи человека / Н.В. Фридман, Н.С. Линькова, В.О. Полякова, А.О. Дробинцева, С.В. Трофимова, И.М. Кветной, В.Х. Хавинсон // Успехи геронтологии. — 2017. — Т. 30. — № 5. — С. 698–702.
2. Сравнительное влияние пептидов KE и AED на функциональную активность фибробластов кожи человека при их репликативном старении / Н.В. Фридман, Н.С. Линькова, Е.О. Кожевникова, Е.О. Гутоп, В.Х. Хавинсон // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2020. — № 3. — С. 197–201.
3. Фридман Н.В. Обзор пептидов, применяемых в дерматокосметологии / Н.В. Фридман, Н.В. Фетисова // Успехи геронтологии. — 2015. — Т. 28. — № 4. — С. 769–774.
4. Фридман Н.В. Перспективы применения пептидных биорегуляторов для восстановления структуры кожи женщин среднего возраста / Н.В. Фридман, Л.В. Бойко, С.В. Трофимова // Врач. — 2020. — Т. 31. — № 9. — С. 62–66.
5. Экспрессия коллагена I типа, сиртуина-6 и матриксной металлопротеиназы-1 в фибробластах кожи человека при старении / Н.В. Фридман, Н.С. Линькова, В.О. Полякова, А.О. Дробинцева, А.В. Дудков, С.В. Трофимова, И.М. Кветной, В.Х. Хавинсон // Морфология. — 2018. — Т. 153. — № 1. — С. 39–44.
6. Влияние пептидных биорегуляторов на структурно-функциональные особенности кожи лица женщин пожилого возраста / Фридман Н.В., Линькова Н.С., Бойко Л.В., Кахели М.А. // Молекулярная медицина. — 2021. - №3. - С. 38-42.

**Апробация работы.** Основные материалы диссертации доложены на Основные материалы диссертации доложены на XXIII съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Воронеж, 2017), Международной научной конференции по биоорганической химии «XII чтения памяти академика Юрия Анатольевича Овчинникова», VII Российский симпозиум «Белки и пептиды» (Москва, 2017), IV International Dermaesthetic Medical Day «Ageless Generation — симбиоз геронтологии и эстетической медицины» (Москва, 2017), International Symposium of Experts

“Regenerative medicine and ageing” (Dubai, 2020); Международная научная конференция «Инновационные исследования в биологии и медицине» (Сочи, 2020).

**Соответствие диссертации специальности.**

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, объему исследований, глубине анализа и обобщения материала диссертационная работа Фридман Натальи Владимировны полностью соответствует требованиям п. 9 и п. 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, от 01.10.2018 г. №1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.30 – геронтология и гериатрия.

Диссертация «Влияние пептидов на фибробласты кожи человека при репликативном старении» Фридман Натальи Владимировны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.30 – геронтология и гериатрия.

Заключение принято на заседании Проблемной комиссии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии». Присутствовало на заседании - 11 чел. Результаты голосования: «за» - 11 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол №6 от 28 декабря 2020 г.

Председатель Проблемной комиссии  
АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт  
биорегуляции и геронтологии»  
засл. деят. науки РФ,  
доктор мед. наук, профессор

Г.А. Рыжак

Ответственный секретарь Проблемной комиссии  
АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт  
биорегуляции и геронтологии»  
доктор биол. наук, профессор

Т.В. Кветная

10 февраля 2021 г.

*Подписи з.д.н. РФ, д.м.н., проф. Г.А. Рыжак и  
д.б.н., проф. Т.В. Кветной заверено.*

*Нагальник ОК  
институт биорегуляции и геронтологии*



*АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»  
М.В. Соколова*