

**Заключение диссертационного совета Д 75.2.020.01
на базе автономной научной некоммерческой организации высшего
образования научно-исследовательского центра «Санкт-Петербургский
институт биорегуляции и геронтологии»
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук**

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета Д 75.2.020.01 от 21.12.2023 г. № 11 о присуждении Мякишевой Светлане Николаевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов» по специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия (биологические науки) принята к защите 19 октября 2023 г., протокол № 09 Диссертационным советом Д 75.2.020.01 на базе АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» по адресу: 197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3 (утвержден приказом 22/нк от 24 января 2017 г., Минобрнауки РФ, внесение изменений в состав ДС, приказ 222/нк от 13 марта 2019 г.).

Соискатель Мякишева Светлана Николаевна, 1973 г. рождения, в 1996 г. окончила ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия имени И.И. Мечникова», специальность – медико-профилактическое дело, квалификация – врач-гигиенист, эпидемиолог (диплом ЭВ №757271 от 21.06.1996). В 2021 г. Светлана Николаевна по указу Президента РФ награждена орденом Пирогова.

Мякишева С.Н. с 01.09.2021 г. по настоящее время работает научным сотрудником отдела биogerонтологии в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии». С 2021 г. по 2023 г. С.Н. Мякишева занималась подготовкой диссертации на тему «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 3.1.31. Геронтология и гериатрия (биологические науки). Научный руководитель: з.д.н. РФ, д.м.н., профессор Рыжак Галина Анатольевна – заведующая отделом клинической геронтологии и гериатрии, заместитель директора по научной работе и новым

технологиям АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии». Тема диссертации и научный руководитель утверждены на заседании Ученого совета АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (протокол №08 от 16 сентября 2021 г.).

Мякишева С.Н. успешно сдала кандидатские экзамены: иностранный язык (английский) – хорошо, история и философии науки – отлично, геронтология и гериатрия (биологические науки) – отлично. Справка о сдаче кандидатских экзаменов (АПО-236 от 11.09.2023 г.) выдана в Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.

Официальные оппоненты:

Виноградова Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии, организации и экономики фармации медицинского института ВГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», г. Петрозаводск,

Ильницкий Андрей Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины Академии постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА», дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России), подписан д.м.н., доцентом Булгаковой Светланой Викторовной. Отзыв утвержден проректором по научной работе ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России доктором медицинских наук, профессором Игорем Леонидовичем Давыдкиным. **Отзыв положительный**, содержит два вопроса для дискуссии.

1. *Согласно данным литературы, имеются ли еще молекулярные факторы, участвующие в формировании SASP хондроцитов, кроме тех, которые были изучены в диссертационном исследовании?*

2. *Как, по мнению автора, можно объяснить различия в эффективных концентрациях пептида AED и ППКХ?*

В отзыве отмечается высокая научно-практическая значимость диссертационного исследования С.Н. Мякишевой для фундаментальной и практической геронтологии. Отзыв утвержден на заседании кафедры гериатрии и возрастной эндокринологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, протокол № 5 от 8 ноября 2023 г.

По материалам диссертации опубликованы 10 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования материалов диссертационных исследований и международных журналах, входящих в базы данных PubMed, Web of Science, Scopus, 1 статья в сборнике и 5 тезисов докладов.

В публикациях соискателя в полной мере отражены наиболее существенные положения и выводы диссертационной работы. В работе впервые показано, что пептид AED в эффективной концентрации 200 нг/мл повышал количество хондроцитов в культурах, полученных от молодых и старых крыс, соответственно в 1,4-1,8 и 1,6-2,1 раза по сравнению с контролем. ППКХ в эффективной концентрации 2000 нг/мл стимулировал пролиферацию хондроцитов в культурах, полученных от молодых и старых крыс, соответственно в 1,7-2,2 и 1,8-2,5 раза по сравнению с контролем. Впервые изучено влияние полипептидного комплекса хрящевой и костной тканей (ППКХ) и пептида AED на экспрессию генов SOX9, COL2A1, COMP, ACAN и синтез белков хондрогенной дифференцировки SOX9, агрекана, коллагена II типа и COMP в культуре МСК человека при репликативном старении. Пептид AED в концентрации 200 нг/мл активирует экспрессию генов и синтез всех исследуемых белков при старении МСК. Для ППКХ этот эффект достигается в концентрации 2000 нг/мл. Впервые охарактеризован SASP хондроцитов и проведена сравнительная оценка влияния пептида AED и ППКХ на этот показатель. Установлено, что SASP хондроцитов характеризуется повышением синтеза проапоптотических белков p16, p21, p53, провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α , и снижением синтеза SIRT1. Впервые установлено, что пептиды AED и ППКХ нормализуют синтез молекул, формирующих секреторный фенотип хондроцитов, ассоциированный со старением. Установлено, что молекулярные механизмы геро- и хондропротекторного

действия ППКХ и пептида AED обусловлены снижением синтеза проапоптотических белков p16, p21, p53, провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α и повышением экспрессии гистоновой деацетилазы SIRT1 в хондроцитах.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Влияние пептидов на хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток человека при репликативном старении / С.Н.Мякишева, Н.С. Линькова, А.С. Дятлова, В.О. Полякова, Г.А. Рыжак // Успехи геронтологии. 2023. Т. 36. № 2. С. 383–390. doi: 10.34922/AE.2023.36.2.013.
2. Мякишева, С.Н. Секреторный фенотип хондроцитов, ассоциированный со старением: роль в патогенезе остеоартрита и перспективы пептидной биорегуляции / С.Н. Мякишева, Н.С. Линькова, Г.А. Рыжак // Успехи геронтологии. 2023. Т. 36. № 2. С. 313–323. doi: 10.34922/AE.2023.36.2.004.
3. Пептиды предотвращают формирование секреторного фенотипа хондроцитов, ассоциированного со старением / С.Н.Мякишева, Н.С. Линькова, Е.О. Кожевникова, В.О. Полякова, Г.А. Рыжак // Успехи геронтологии. 2023. Т. 36. № 2. С. 234–238. doi: 10.34922/AE.2023.36.2.011.
4. Peptide Regulation of Chondrogenic Stem Cell Differentiation. / N. Linkova, V. Khavinson, A. Diatlova, S. Myakisheva, G. Ryzhak // Int. J. Mol. Sci. Special Issue «New Trend in the Research of Short Peptides». 2023. Vol. 24. P. 8415. <https://doi.org/10.3390/ijms24098415>.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

1. доктора биологических наук, доцента Рукавишниковой Светланы Александровны - заведующей клинико-диагностической лабораторией СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», г. Санкт-Петербург;
2. доктора медицинских наук, профессора Шишкина Александра Николаевича, заведующего кафедрой факультетской терапии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург;
3. доктора медицинских наук Татариновой Ольги Викторовны, главного врача Государственного автономного учреждения республики Саха (Якутия) «Республиканская клиническая больница №3, г. Якутск,

главного внештатного специалиста-гериатра Министерства здравоохранения Республики Саха (Якутия), руководителя Якутского регионального отделения Геронтологического общества при РАН, г. Якутск;

4. доктора биологических наук Кореневского Андрея Валентиновича, руководителя группы биохимии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург;
5. доктора биологических наук, профессора, Голубцовой Натальи Николаевны, заведующей кафедрой общей и клинической морфологии и судебной медицины медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», г. Чебоксары.

Все отзывы положительные, вопросов не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высоким уровнем их профессиональной компетентности, профессиональной деятельности, наличием публикаций в соответствующей сфере исследования и широкой известностью своими достижениями в области биогеронтологии и молекулярных аспектов заболеваний опорно-двигательной системы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: проведена оценка информативности экспрессии сигнальных молекул, формирующих секреторный фенотип хондроцитов, ассоциированный со старением (SASP); предложен новый метод замедления старения хондроцитов под действием пептидных хондропротекторов; доказана перспективность использования полипептидного комплекса хрящевой и костной тканей и пептида AED для профилактики и терапии заболеваний опорно-двигательного аппарата, ассоциированных с возрастом.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказана роль проапоптотических белков p16, p21, p53, провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α , гистоновой деацетилазы Sirt1 в формировании SASP хондроцитов. Применительно к задаче диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов), использованы методы иммунофлуоресцентного анализа с применением

лазерной сканирующей конфокальной микроскопии и морфометрии и ПЦР-исследования в режиме реального времени. **Изложены идеи** использования пептидных хондропротекторов для предотвращения развития возрастных заболеваний опорно-двигательного аппарата. **Заложены научные основы** для дальнейшего экспериментального изучения SASP хондроцитов, в том числе при патологии опорно-двигательного аппарата. **Раскрыты новые** молекулярно-клеточные аспекты старения организма человека в норме и при патологии опорно-двигательного аппарата. **Изучены** количественные показатели экспрессии проапоптотических белков p16, p21, p53, провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α , гистоновой деацетилазы Sirt1 в хондроцитах с позиций биogerонтологии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: разработаны и внедрены в учебный процесс и научно-исследовательскую деятельность АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» **новые подходы** к оценке эффективности пептидных биорегуляторов для предотвращения формирования SASP хондроцитов, **определены перспективы** использования хондропротекторных пептидов при возрастных заболеваниях опорно-двигательного аппарата; **представлены рекомендации** по дальнейшему изучению молекулярных механизмов формирования SASP хондроцитов; **изложена идея** о том, что оценка SASP хондроцитов может применяться для диагностики заболеваний опорно-двигательного аппарата, ассоциированных с возрастом.

Оценка достоверности результатов исследования выявила следующее: для экспериментальных работ использовались общепризнанные стандартные экспериментальные модели; **результаты получены** на сертифицированном современном оборудовании, с использованием современных методов молекулярной и клеточной биологии; разрабатываемая в диссертации **теория построена** на актуальных литературных данных, согласуется с опубликованными результатами по теме диссертации; **идея исследования базируется** на обобщении большого числа литературных данных совместно с предыдущими исследованиями автора.

Личный вклад автора в диссертационное исследование состоял в составлении его дизайна, непосредственном проведении всех экспериментов, статистической обработке, анализе и интерпретации данных. Автор принимала участие во всех исследованиях, включавших в себя иммунофлуоресцентное окрашивание культур клеток, проведение лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, морфометрию, ПЦР-анализ, статистическую обработку данных. Автор также принимала участие в написании статей, тезисов по материалам диссертационного исследования и смежным областям геронтологии, выступала с докладами на конференциях. В ходе защиты диссертации критических замечаний не было высказано. Соискатель С.Н. Мякишева грамотно ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

Таким образом, диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, выполненная Мякишевой Светланой Николаевной на тему: «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов» по специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия (биологические науки), является завершённой научно-квалификационной работой, в которой на основании самостоятельно выполненных автором исследований сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно квалифицировать, как новое решение актуальной научной задачи в области биogerонтологии – исследование секреторного фенотипа хондроцитов, ассоциированного с их старением, и геропротекторных свойств пептидных хондропротекторов.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов, представленная работа соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. №1024, от 01.10.2018 г. №1168, от 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук.

На заседании 21 декабря 2023 г. диссертационный совет принял решение присудить Мякишевой Светлане Николаевне ученую степень кандидата биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 докторов наук по специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 14, против – «нет», недействительных бюллетеней – «нет».

Заместитель Председателя
Диссертационного совета Д 75.2.020.01
з.д.н. РФ, д.б.н., профессор

Арутюнян Александр Вартанович

Учёный секретарь
Диссертационного совета Д 75.2.020.01
д.б.н., профессор

Козина Людмила Семеновна

«21» декабря 2023 г.

