

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Мякишевой Светланы Николаевны
на тему: «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов»
по специальности 3.1.31 – Геронтология и гериатрия

Основой для проведенного С.Н. Мякишевой исследования послужило актуальное направление молекулярной биологии и геронтологии, посвященное поиску эффективных и безопасных пептидных биорегуляторов для нормализации функций хрящевой ткани у лиц старших возрастных групп. В настоящее время разрабатываются методы биоинженерии, способные стимулировать восстановление хрящевой ткани. Заболевания опорно-двигательного аппарата, включая остеоартрит, являются одной из ведущих причин инвалидизации лиц среднего и пожилого возраста во всем мире. В Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии был разработан полипептидный комплекс хрящевой и костной тканей (ППКХ). В настоящее время в рамках II фазы клинических испытаний проводится оценка его эффективности и безопасности у больных гонартрозом второй и третьей степени. Это свидетельствует о перспективности исследования ППКХ в качестве вещества, которое потенциально может быть эффективно при остеоартрите и обладать геропротекторными свойствами. В состав ППКХ входят короткие пептиды, в том числе пептид AED.

С.Н. Мякишевой впервые охарактеризован секреторный фенотип хондроцитов, ассоциированный со старением, и проведена сравнительная оценка влияния трипептида AED и ППКХ на этот показатель. Соискателем впервые установлено, что секреторный фенотип хондроцитов, ассоциированный со старением, характеризуется повышением синтеза проапоптотических белков p16, p21, p53, провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α и снижением синтеза SIRT1. С.Н. Мякишевой впервые установлено, что пептиды AED и ППКХ нормализуют синтез молекул, формирующих секреторный фенотип хондроцитов, ассоциированный со старением. Соискателем впервые 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.

Серьезных замечаний к материалам диссертационной работы, изложенным в автореферате, нет.

Содержание автореферата свидетельствует, что диссертация С.Н. Мякишевой является самостоятельно выполненной, законченной научной квалификационной работой, имеющей значение для развития молекулярной биологии и геронтологии. По актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 01.10.2018 г. №1168, от 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Светлана Николаевна Мякишева, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 3.1.31 – Геронтология и гериатрия.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России №662 от 01.06.2015 г.), необходимых для работы диссертационного совета Д.75.2.020.01.

Руководитель группы биохимии

ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»

доктор биологических наук по специальностям:

03.03.01 – Физиология, 03.04.01 – Биохимия

Корневский Андрей Валентинович

«22» ноября 2023 г.

Подпись д.б.н. Корневского А.В. «ЗАВЕРЯЮ»

Ученый секретарь НИИ АГиР им. Д.О. Отта

к.м.н. Пачулия О.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» (ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»).

Адрес: 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Веб-сайт: <https://ott.ru>; e-mail: iagmail@ott.ru; телефон: +7 (812) 328-23-61.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук Мякишевой Светланы Николаевны на тему: «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов» по специальности 3.1.31 – Геронтология и гериатрия

По данным ВОЗ около 70% населения планеты страдают заболеваниями опорно-двигательного аппарата. Патология суставов негативно сказывается на качестве жизни пациентов, так как ее течение сопровождается сильными болями, ограничением подвижности, нередко приводящим к инвалидности. В настоящее время не существует универсальных средств лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата. Поэтому актуальной задачей современной молекулярной геронтологии и гериатрии является разработка новых методов профилактики и лечения заболеваний опорно-двигательной системы, в частности остеоартрита.

В связи с этим целью диссертационного исследования Светланы Николаевны Мякишевой стало изучение влияния полипептидного комплекса хрящевой и костной тканей (ППКХ) и пептида AED на хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток, а также секреторный фенотип хондроцитов, ассоциированный со старением (SASP).

Результаты диссертационного исследования С.Н. Мякишевой подробно изложены в автореферате, дополнены графиками и микрофотографиями высокого качества, что обеспечивает наилучшее восприятие большого объема количественных данных. На основании представленных результатов в диссертационной работе предлагается использование пептидных биорегуляторов в качестве основы для разработки новых терапевтических средств для лечения остеоартрита и других заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Автором были установлены эффективные концентрации изучаемых веществ – 200 нг/мл для пептида AED и 2000 нг/мл для ППКХ. В данных концентрациях биорегуляторы стимулировали пролиферацию хондроцитов, полученных от молодых и старых крыс. В модели репликативного старения мезенхимальных клеток человека изучаемые вещества оказывали стимулирующее действие на экспрессию генов и синтез белков COMP, ACAN, COL2A1, SOX9, связанных с процессами пролиферации и дифференцировки клеток хряща. В работе впервые охарактеризован SASP хондроцитов, и показано, что пептид AED и ППКХ снижают его проявления в культуре клеток, ингибируя синтез белков-маркеров апоптоза p16, p21, p52, провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α и повышая синтез геропротекторного сиртуина SIRT1.

На основании автореферата можно однозначно заключить, что диссертационное исследование проведено С.Н. Мякишевой самостоятельно, обладает внутренним единством, а хорошая методологическая база не оставляет сомнений в достоверности полученных результатов, имеющих

важное научно-практическое значение для современной молекулярной геронтологии и гериатрии. Высокий уровень работы подтверждается наличием 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. Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

По актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 01.10.2018 г. №1168, от 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации, Светлана Николаевна Мякишева, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия.

Главный врач Государственного автономного учреждения Республики Саха (Якутия) «Республиканская клиническая больница №3», главный внештатный специалист-гериатр Министерства здравоохранения Республики Саха (Якутия), руководитель Якутского регионального отделения Геронтологического общества при РАН
доктор медицинских наук
14.01.30 – Геронтология и гериатрия (медицинские науки)

Татарина Ольга Викторовна

«1» ноября 2023 г.

Подпись д.м.н. Татариновой О.В. заверяю:

Начальник отдела кадров



М.И. Атласова

Государственное автономное учреждение Республики Саха (Якутия)
«Республиканская клиническая больница №3» (ГАУ РС (Я) «РКБ №3»)
Адрес: 677027, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Горького, д. 94
e-mail: rkb3@gov14.ru
Сайт: <https://rb3.mzsakha.ru>
Телефон: (4112) 507-216

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук Мякишевой Светланы Николаевны на тему: «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов» по специальности 3.01.31. Геронтология и гериатрия

Актуальность исследования. Поиск эффективных и безопасных пептидных биорегуляторов для нормализации функций хрящевой ткани у лиц старших возрастных групп является актуальной задачей биogerонтологии. Перспективными геро- и хондропротекторами являются полипептидный комплекс хрящей (ППКХ) и пептид AED, входящий в его состав. Однако молекулярный механизм хондропротекторной активности пептидов хрящей при клеточном старении в настоящее время не изучен.

Цель работы Мякишевой С.Н. - изучить влияние полипептидного комплекса хрящей и пептида AED на хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток, а также секреторный фенотип хондроцитов, ассоциированный со старением.

Материал и методы исследования. При помощи современных молекулярных и клеточных методов - выделения первичной культуры, построения кривой клеточного роста, постановки ПЦР-реакции, иммуноцитохимического исследования, иммунофлуоресцентной конфокальной и световой микроскопии, морфометрии, компьютерного анализа микроскопических изображений, а также статистической обработки полученных данных, автор проводила сравнительную оценку влияния ППКХ и пептида AED на дифференцировку и старение хондроцитов и мезенхимальных стволовых клеток (МСК). В качестве маркеров были выбраны SOX9 (транскрипционный фактор, регулятор хондрогенной дифференцировки), коллаген II типа (структурный компонент внеклеточного матрикса хряща), агрекан (структурный компонент хряща), COMP (неколлагеновый белок, структурный компонент внеклеточного матрикса хряща), p16, p21, p53 (регуляторы клеточного цикла, маркеры апоптоза), SIRT1 (эпигенетический регулятор клеточного старения), TNF α и IL-1 α (провоспалительные цитокины, маркеры секреторного фенотипа хондроцитов, ассоциированного со старением). Полученные данные об экспрессии этих сигнальных молекул были надлежащим образом статистически обработаны.

Основные результаты диссертационного исследования. Светланой Николаевной было установлено, что мишенями геропротекторного действия пептида AED и ППКХ являются проапоптотические протеины p16, p21, p53, сиртуин Sirt1 и маркеры хондрогенной дифференцировки SOX9, COMP, агрекан и коллаген II типа. Мишенями хондро-и геропротекторного действия полипептидного комплекса хрящевой и костной тканей также являются провоспалительные цитокины TNF α , IL-1 α .

Заключение. Диссертационное исследование Мякишевой Светланы Николаевны на тему: «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов» представляет собой весомый вклад в решение актуальных задач современной геронтологии и гериатрии. По актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости работа полностью соответствует требованиям п. 9 и п.14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изм., утв. 21.04.2016 г. №335, от 01.10.2018 г. №1168, от 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть представлена для защиты ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия.

Заведующий кафедрой факультетской терапии
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»
доктор медицинских наук,
профессор по специальности 3.1.18 – внутренние болезни

Шишкин Александр Николаевич

«17» ноября 2023 г.



Полное название организации: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», сокращенное название: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Почтовый адрес: 199106, Россия, г. Санкт-Петербург, 21-ая линия Васильевского острова, д.8А.

Телефон: 8(812) 326-03-26

Web сайт: <http://spbu.ru/> E-mail: a.n.shishkin@spbu.ru

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук Мякишевой Светланы Николаевны на тему «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов» по специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия

Диссертационное исследование Светланы Николаевны Мякишевой посвящено актуальной, но недостаточно разработанной теме биомедицины, геронтологии и гериатрии – изучению влияния пептидных биорегуляторов на дифференцировку клеток хряща в моделях клеточного старения. Актуальность данного исследования обусловлена неуклонным ростом числа заболеваний опорно-двигательного аппарата среди населения среднего, пожилого и старческого возраста.

Анализ содержания автореферата позволяет утверждать, что диссертационное исследование С.Н. Мякишевой является самостоятельно выполненной научной квалификационной работой, направленной на решение актуальной задачи биogerонтологии. Судя по автореферату, научные положения и выводы имеют большую практическую ценность, которая заключается в том, что пептидные биорегуляторы (короткий пептид AED и полипептидный комплекс костной и хрящевой тканей (ППКХ)) оказывают положительное влияние на пролиферацию и дифференцировку хондроцитов в моделях репликативного старения. Согласно результатам, полученным автором, изучаемые вещества в эффективных концентрациях способны стимулировать экспрессию некоторых генов-регуляторов дифференцировки хондроцитов, которая снижается при старении организма, а также нивелировать негативные проявления фенотипа клеток, ассоциированного со старением (SASP).

Достоверность и обоснованность проведенного научного исследования обеспечиваются целостным, комплексным подходом, адекватностью использованных в работе молекулярно-клеточных методов исследования поставленным цели и задачам, полноценной научной апробацией основных идей работы.

Полученные в представленном исследовании данные о повышении экспрессии генов *ACAN*, *COMP*, *COL2A1*, *SOX9* и синтеза соответствующих белков под действием пептида AED и ППКХ свидетельствуют об их хондропротекторном эффекте в моделях клеточного старения. Помимо положительного влияния на гены дифференцировки хондроцитов, пептидные биорегуляторы также снижают синтез проапоптотических белков-регуляторов клеточного цикла p16, p21, p53 и провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α , повышают синтез регулятора-геропротектора – гистоновой деацетилазы SIRT1.

Полученные результаты обладают практической значимостью, так как предлагают новые решения терапии остеоартритов и прочих возраст-ассоциированных патологий опорно-двигательной системы.

Автореферат диссертации отличается лаконичным и четким научным стилем и логичностью изложения, материал хорошо структурирован.

Стратегия и тактика диссертационного исследования выбраны правильно. Общая характеристика исследования, основное содержание работы, теоретические и практические части автореферата диссертации сбалансированы.

Заключение

Содержание автореферата свидетельствует, что диссертация С.Н. Мякишевой является самостоятельно выполненной, законченной научной квалификационной работой, имеющей значение для развития биogerонтологии, геронтологии и гериатрии. Высокий уровень работы подтверждается наличием 10 опубликованных научных работ, в том числе 4 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования материалов диссертационных исследований и международных журналах, входящих в базы данных PubMed, Web of Science, Scopus, 1 статье в сборнике и 5 тезисов докладов.

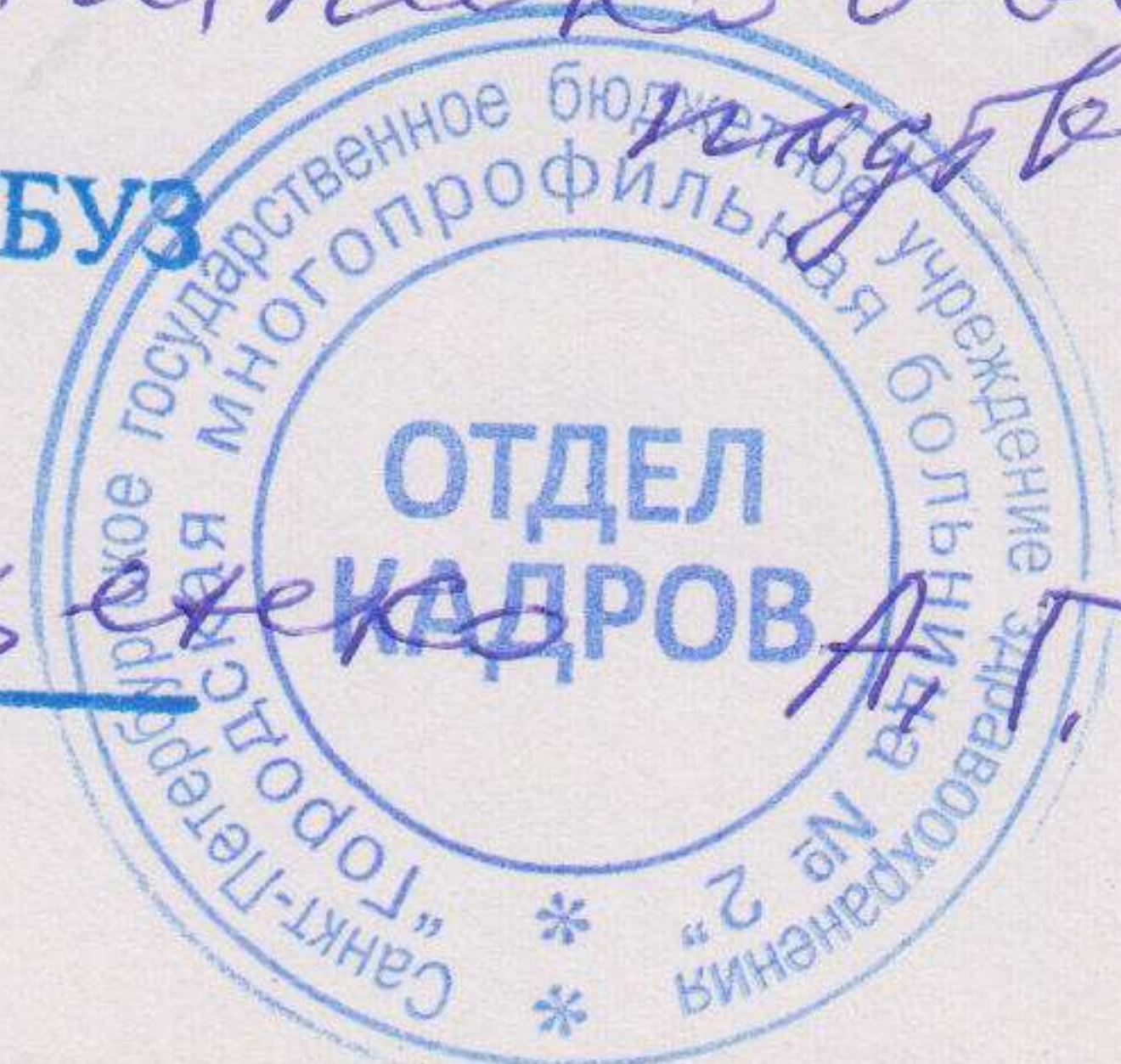
По актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации, Светлана Николаевна Мякишева, несомненно, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.31 – Геронтология и гериатрия.

Заведующая клинко-диагностической лабораторией
СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2»,
Доктор биологических наук (14.01.30 – геронтология и гериатрия),
доцент (14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика)

Рукавишникова Светлана Александровна

«14» ноября 2023 г.

С.А.
Светлана Александровна Рукавишникова
Начальник отдела кадров С-Пб ГБУЗ
«Городская многопрофильная
больница №2»
Сергей (подпись) *Терентьев* (Ф.И.О.)



Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская многопрофильная больница № 2» (СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2»).
Адрес: 194354, Россия, Санкт-Петербург, Учебный пер., д. 5.
E-mail: b2@zdrav.spb.ru. Телефон: +7 (812) 338-48-88
Web сайт: <https://gmpb2.ru/patsientam/diagnosticheskaya-baza/kliniko-diagnosticheskaya-laboratoriya-kdl/personal?ysclid=lobwwjz2lz387026545>.

ОТЗЫВ
на автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Мякишевой Светланы Николаевны
на тему: «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов»
по специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия

Актуальность темы диссертационной работы С.Н. Мякишевой, посвященной изучению влияния ППКХ и пептида AED на хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток, а также секреторный фенотип хондроцитов, ассоциированный со старением (SASP), не вызывает сомнений. Для лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата, включая остеоартрит (ОА) до сих пор не существует эффективной таргетной терапии. Поскольку ОА является ассоциированным с возрастом заболеванием, большое внимание уделяется поиску биологически активных веществ, обладающих не только хондропротекторными, но и геропротекторными свойствами. В связи с этим активно разрабатываются методы биоинженерии, способные стимулировать восстановление хрящевой ткани. К ним относится хондрогенная дифференцировка стволовых клеток, для стимуляции которой применяют различные биомолекулы, в том числе короткие пептиды и полипептидные комплексы. Такими биорегуляторами являются ППКХ и трипептид AED.

Проведенное С.Н. Мякишевой исследование влияния ППКХ и пептида AED на пролиферацию хондроцитов, полученных от молодых и старых крыс, на экспрессию генов и синтез белков хондрогенной дифференцировки МСК человека, а также влияния ППКХ и пептида AED на SASP хондроцитов позволило установить, что ППКХ и пептид AED обладают геро- и хондропротекторными свойствами в исследованиях *in vitro*. Эти эффекты пептидов достигаются за счет снижения синтеза проапоптотических белков p16, p21, p53, провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α и увеличения экспрессии фермента SIRT1, регулирующего активность транскрипционных факторов в хондроцитах. Полученные результаты демонстрируют перспективы применения изученных веществ в качестве хондро- и геропротекторных препаратов нового поколения, эффективно стимулирующих репарацию хрящевой ткани при ее старении и ассоциированных с возрастом заболеваниях, в том числе ОА. Следует отметить, что основное содержание диссертации широко представлено и в многочисленных публикациях автора.

На основании сказанного выше можно утверждать, что представленный автореферат отражает основное содержание диссертации на тему: «Пептидная регуляция дифференцировки и старения хондроцитов», а сама диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 01.10.2018 г. №1168, от 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации, Светлана Николаевна Мякишева, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 3.1.31. Геронтология и гериатрия.

Заведующий кафедрой общей и клинической морфологии
и судебной медицины медицинского факультета
ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»
доктор биологических наук по специальности 14.01.30. Геронтология и гериатрия,
03.03.04. Клеточная биология, цитология, гистология



Голубцова Наталья Николаевна

« 04 » _____ 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» (ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова»), ЧувГУ, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова») Веб-сайт: <https://www.chuvsu.ru/>, электронная почта: office@chuvsu.ru, телефон: +7 (8352) 58-30-36 Почтовый адрес: 428015, Чувашская Республика, г. Чебоксары, Московский пр-т, д. 15

Подпись руки
заведующей
Начальник отдела делопроизводства
ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова»
И.А. Гордеева
20 23 г.