

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



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Диссертация «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением» 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 Пухальская Анастасия Эдуардовна работает в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» научным сотрудником. А.Э. Пухальская в 2020 г. окончила ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, квалификация – «врач-лечебник».

А.Э. Пухальская является соискателем АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» без окончания аспирантуры. Справка о сдаче кандидатских экзаменов №51 от 16.06.2021 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».

По итогам обсуждения диссертации Пухальской Анастасии Эдуардовны «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением» принято следующее заключение.

Представленная диссертационная работа Пухальской Анастасии Эдуардовны 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 108 страницах, иллюстрирован 17 рисунками, содержит 3 таблицы. Список литературы содержит 205 источников, из них на русском языке — 3, на английском — 202.

Диссертационная работа А.Э. Пухальской 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 иммуноцитохимическое исследование буккального эпителия иммуноферментный анализ слюны, иммуногистохимическое изучение образцов гиппокампа, лазерную сканирующую конфокальную микроскопию, морфометрию. Автор также принимала участие в анализе данных, статистической обработке полученных результатов исследования, написании статей, тезисов, главы в монографии, выступлении с докладами на международных и отечественных конференциях.

Актуальность. Сиртуины (silent information regulator, SIRT) - семейство эволюционно консервативных НАД-зависимых белков, обладающих деацетилазной или АДФ-рибозилтрансферазной активностью. Сиртуины обнаружены у всех живых организмов и вовлечены в регуляцию метаболических путей и эпигенетическую регуляцию экспрессии генов. SIRT1,2,6,7 млекопитающих находятся в ядре, SIRT1,2 – в цитоплазме, SIRT3,4,5 – в митохондриях, где они деацетилируют негистоновые белки в процессе регуляции различных метаболических процессов. Сиртуины участвуют в старении организма в норме и при патологии, регулируя функции антиоксидантной защиты, иммунной системы и активность апоптоза клеток. SIRT6 - регулятор транскрипции и стабильности генома, целостности теломер, репарации ДНК и метаболического гомеостаза. Повышение экспрессии гена SIRT6 на 16% способствует увеличению продолжительность жизни.

В 2017 - 2018 гг. появились данные о том, что сиртуины играют важную роль в развитии распространенной возраст-ассоциированной патологии – болезни Альцгеймера (БА). У мышей со сниженной экспрессией SIRT6 повышается уровень апоптоза нейронов головного мозга, экспрессия гиперфосфорилированной формы τ -протеина, наблюдаются признаки нейродегенерации. У пациентов с БА экспрессия SIRT6 также была снижена. Снижение экспрессии SIRT3 у животных и человека приводит к активации экспрессии τ -протеина и пептида A β 42 – маркеров БА. Подавление экспрессии SIRT1 у трансгенных мышей с БА приводит к активации синтеза

пептида Aβ42 и оксидативного стресса. Аналогичная закономерность была отмечена у пациентов с БА. Высказывается предположение о том, что регуляция экспрессии сиртуинов и оценка их синтеза в головном мозге, буккальном эпителии и слюне могут иметь важное значение для диагностики и оценки эффективности терапии БА.

Научная новизна. В работе впервые проведено сравнительное изучение экспрессии сиртуинов SIRT1,3,5,6 у лиц без нейропатологии и при БА в гиппокампе, буккальном эпителии и слюне у лиц среднего, пожилого и старческого возраста. Впервые показано, что с возрастом и при БА экспрессия SIRT1,3,6 в гиппокампе и буккальном эпителии снижается. Возрастное снижение экспрессии SIRT1,3,6 в буккальном эпителии у лиц без нейропатологии носит умеренный характер (в среднем не более, чем в 1,5-2 раза), тогда как при БА этот процесс ярко выражен и уменьшение синтеза SIRT1,3,6 составляет от 3 до 5 раз. Впервые установлено, что в буккальном эпителии, слюне и головном мозге этот процесс носит сходный характер. Впервые выявлено, что экспрессия SIRT1,3,5 в слюне с возрастом в «норме» повышается в 1,7-1,8 раза, а и при БА - снижается в 1,5-4,8 раза. Полученные данные вносят важный вклад в понимание молекулярных аспектов старения головного мозга и разработку методов оценки темпа старения организма в «норме» и при нейропатологии. Впервые установлено, что верификация сиртуинов SIRT1,3,6 в буккальном эпителии и слюне может применяться для предиктивной оценки темпа старения (снижение их синтеза в 1,5-2 раза). Впервые установлено, что оценка экспрессии SIRT1,3,6 в буккальном эпителии (уменьшение их экспрессии в 3-5 раз) и концентрации SIRT1,3,5 в слюне (уменьшение в 1,5-4,8 раза) у людей старших возрастных групп может применяться для предиктивной диагностики БА.

Практическая значимость. Полученные результаты позволяют разработать алгоритм для прижизненной диагностики и оценки эффективности терапии БА у лиц старших возрастных групп и определения биологического возраста у людей среднего, пожилого и старческого возраста без нейропатологии. Снижение экспрессии SIRT1,3 в 1,5 – 1,8 раза в буккальном эпителии отражает характер этого процесса в гиппокампе при «нормальном» старении. Уменьшение синтеза SIRT1,3,6 в буккальном эпителии в 3,9 раза отражает характер этого процесса в гиппокампе при развитии БА. У лиц пожилого и старческого возраста с БА экспрессия SIRT6 в буккальном эпителии снижается в 3,9 раза по сравнению с этим показателем у лиц без нейропатологии соответствующих возрастных групп. У пациентов среднего, пожилого и старческого возраста с БА концентрация SIRT6 в слюне снижается соответственно в 3,5, 4,1 и 5,1 раза по сравнению с этим показателем у лиц без нейродегенеративных заболеваний этого же возраста. Различная выраженность снижения экспрессии SIRT1,3,6 в головном мозге, буккальном эпителии и слюне при старении у лиц без нейропатологии и при БА позволяет проводить диагностику этих двух процессов. Это позволяет рассматривать снижение более, чем в 3 раза,

экспрессии SIRT6 в буккальном эпителии и его концентрации слюне в качестве предикторов развития БА у лиц старших возрастных групп. Кроме того, важным предиктором развития БА при старении является выраженное снижение концентрации SIRT1 в слюне. У лиц среднего, пожилого и старческого возраста с БА концентрация SIRT1 в слюне снижается соответственно в 2, 3,2 и 4,8 раза по сравнению с данным показателем у лиц без нейропатологии этих возрастных групп. Таким образом, для комплексной прижизненной диагностики БА можно проводить оценку экспрессии SIRT1,3,6 в буккальном эпителии и концентрации SIRT1,6 в слюне у лиц старших возрастных групп.

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 11 научных работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования материалов диссертационных исследований (в том числе 3 статьи в журналах, реферируемых в базе данных Scopus), 1 глава в монографии, 3 тезисов докладов. Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Сиртуины как возможные предикторы старения и развития болезни Альцгеймера: верификация в гиппокампе и слюне / А.Э. Пухальская, А.С. Дятлова, Н.С. Линькова, К.Л. Козлов, Т.В. Кветная, М.В. Королева, И.М. Кветной // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2020. - Т.169. - №6. - С. 769-772. (Sirtuins as possible predictors of aging in Alzheimer's disease development: verification in the hippocampus and saliva / A.E. Pukhalskaia, A.S. Dyatlova, N.S. Linkova, K.L. Kozlov, T.V. Kvetnaia, M.V. Koroleva, I.M. Kvetnoy // Bull. Exp. Biol. Med. - 2020. - Vol. 106, N6. - P. 821-824, **Scopus**).
2. Сиртуины: роль в регуляции окислительного стресса и патогенезе нейродегенеративных заболеваний. А.Э. Пухальская, А.С. Дятлова, Н.С. Линькова, И.М. Кветной // Успехи физиологических наук. - 2021. - Т.52. - №1. - С. 90-104. (Sirtuins: Role in the Regulation of Oxidative Stress and the Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases / A.E. Pukhalskaia, A.S. Diatlova, N.S. Linkova, I.M. Kvetnoy. Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2022. - Vol. 52, N.1. - P. 164-174, **Scopus**).
3. Sirtuins Expression in the Hippocampus and Buccal Epithelium of Elderly and Senile Individuals with Alzheimer's Disease / A.E. Pukhalskaia, N.S. Linkova, A.S. Diatlova, K.L. Kozlov, I.M. Kvetnoy, M.V. Koroleva, A.M. Volkov // Advances in Gerontology. 2021. - Vol. 11, N.2. - P. 126–131. (**Scopus**)

Апробация работы. Основные материалы диссертации доложены на XV Научно-практической конференции «Пушковские чтения – 2019». Актуальные вопросы геронтологии и гериатрии (Санкт-Петербург, 2019); Конгрессе «Гериатрическая медицина в XXI веке. Состояние и перспективы (Санкт-Петербург, 2021); Научно-практической конференции «Старшее поколение» (Санкт-Петербург, 2021). Материалы диссертационного исследования внедрены в научную работу АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН» и описаны в главе в книге «Молекулярные механизмы возраст-ассоциированной патологии (лекционные очерки)», рекомендованной для использования в учебном процессе медико-биологических ВУЗов.

Соответствие диссертации специальности. По актуальности, новизне, научной и практической значимости, объему исследований, глубине анализа и обобщения материала диссертационная работа Пухальской Анастасии Эдуардовны 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 3.01.31 – геронтология и гериатрия. Диссертация «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением» Пухальской Анастасии Эдуардовны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.01.31 – 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 №2 от 13 апреля 2022 г.

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

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



Г.А. Рыжак

Т.В. Кветная

20 апреля 2022 г.