

**Заключение экспертной комиссии диссертационного совета
Д 75.2.020.01 при Автономной научной некоммерческой организации
высшего образования Научно-исследовательский центр
«Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»
по диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук ПУХАЛЬСКОЙ Анастасии Эдуардовны
на тему: «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы
нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением»**

Для рассмотрения работы А.Э. Пухальской была создана комиссия из членов диссертационного совета в составе: з.д.н. РФ, д.м.н., проф. Г.А. Рыжак (председатель); з.д.н. РФ, д.б.н., проф. А.В. Арутюнян; д.б.н. И.Г. Попович.

Комиссия ознакомилась с диссертацией и представленными документами.

Работа выполнена в лаборатории молекулярных механизмов старения отдела биogerонтологии Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии») при участии научного руководителя д.б.н., доцента Н.С. Линьковой.

Диссертация была апробирована 13 апреля 2022 г. протокол №2 на совместном заседании лаборатории патологической физиологии сердечно-сосудистой системы, лаборатории биogerонтологии, лаборатории биохимии и лаборатории молекулярных механизмов старения АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» и рекомендована к защите на Диссертационном совете Д 75.2.020.01 по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальности 3.01.31 - геронтология и гериатрия.

Актуальность исследования. 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 продолжительности 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 A β 42 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.

Наиболее значимые результаты, полученные в работе. Экспрессия SIRT1,3,6 в гиппокампе у людей пожилого и старческого возраста без нейропатологии снижается в среднем в 2,3 раза по сравнению с этими показателями у лиц среднего возраста. Экспрессия SIRT1,3,5,6 в гиппокампе у людей среднего, пожилого и старческого возраста с болезнью Альцгеймера снижается в среднем в 3,3 раза по сравнению с этими показателями у лиц без нейропатологии. Экспрессия SIRT5 в гиппокампе в «норме» не зависит от возраста человека. Экспрессия SIRT1,3 в буккальном эпителии у людей пожилого и старческого возраста в «норме» снижается в среднем в 1,7 раза по сравнению с этими показателями у лиц среднего возраста. Экспрессия SIRT1,3 в буккальном эпителии у лиц среднего, пожилого и старческого возраста с болезнью Альцгеймера снижается в среднем в 2,6 раза по сравнению с этими показателями у лиц без нейропатологии. Более выраженное возрастное изменение экспрессии SIRT1,3 в буккальном эпителии пациентов с болезнью Альцгеймера по сравнению с лицами без нейропатологии позволяет рассматривать этот показатель в качестве диагностического критерия. Снижение экспрессии SIRT6 в буккальном эпителии при переходе от среднего к старческому возрасту в «норме» и при болезни Альцгеймера носит однонаправленный характер и составляет в среднем 3,2 раза. Концентрация SIRT1,3,5 в слюне у людей пожилого и старческого возраста без нейропатологии повышается в 1,6-1,8 раза по сравнению с этими показателями у лиц среднего возраста. Концентрация SIRT6 в слюне у людей пожилого и старческого возраста без нейропатологии снижается соответственно в 1,3 и 3,3 раза по сравнению с этими показателями у лиц среднего возраста. Концентрация SIRT1,3,5,6 в слюне у людей среднего, пожилого и старческого возраста с болезнью Альцгеймера снижается в среднем в 3,3 раза по сравнению с этими показателями у лиц без нейропатологии. Экспрессия SIRT1,3,6 в буккальном эпителии по сравнению с концентрацией этих молекул в слюне является более информативной для оценки темпа старения организма у лиц среднего, пожилого и старческого возраста.

Достоверность работы обеспечена достаточным объемом экспериментальных исследований, применением адекватных поставленным задачам современных методов исследования (иммуноцитохимический и иммуногистохимический методы, иммуноферментный анализ, морфометрические исследования, компьютерный анализ микроскопических изображений) и методов математико-статистической обработки полученных данных.

Новизна работы. 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.

Теоретическая значимость. 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.

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.

Результаты исследования используются в научно-исследовательской работе в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» и ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН.

Рекомендации для дальнейшего использования результатов, полученных в работе. Определение экспрессии SIRT1, SIRT3, SIRT6 в буккальном эпителии может быть рекомендовано для комплексной оценки темпа старения организма у лиц среднего, пожилого и старческого возраста без нейропатологии. Комплексная оценка экспрессии SIRT1, SIRT3, SIRT6 в буккальном эпителии и концентрации SIRT1, SIRT3, SIRT5, SIRT6 в слюне могут быть рекомендованы для ранней предиктивной диагностики болезни Альцгеймера у пациентов среднего, пожилого и старческого возраста.

Заключение. На основании вышеизложенного, диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук Пухальской Анастасии Эдуардовны на тему: «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением» может быть оценена как законченная самостоятельная научно-квалификационная работа, которая полностью соответствует требованиям п. 9 «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, содержит решение актуальной для современной молекулярной геронтологии задачи: разработку нового подхода к прижизненной диагностике болезни Альцгеймера с исследованием сиртуинов и может быть принята к защите по специальности 3.01.31 – геронтология и гериатрия (биологические науки).

В качестве официальных оппонентов предлагаются: Чирский Вадим Семенович, доктор медицинских наук, профессор, ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6 и Виноградова Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Петрозаводский

государственный университет», 185910, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33.

Предлагается направить работу Пухальской Анастасии Эдуардовны на тему: «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением» на отзыв Ведущего учреждения в Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физиологии им. И.П. Павлова» Российской академии наук, 199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6. Предлагается список специалистов, которым необходимо направить автореферат в дополнение к основному списку рассылки:

1.	Федорец Виктор Николаевич доктор медицинских наук, доцент	Профессор кафедры факультетской терапии им. профессора В.А. Вальдмана, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2
2.	Агарков Николай Михайлович доктор медицинских наук, профессор	Профессор кафедры биомедицинской инженерии, Юго-Западный государственный университет, 305040, Курск, ул. 50 лет Октября, 94
3.	Ильницкий Андрей Николаевич, доктор медицинских наук, профессор	Заведующий кафедрой терапии, гериатрии и антивозрастной медицины, Институт повышения квалификации ФМБА, 125371, Россия, Москва, Волоколамское шоссе, 91.
4.	Шишкин Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор	Заведующий кафедрой факультетской терапии, Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9.
5.	Булгакова Светлана Викторовна, доктор медицинских наук, доцент	Заведующая кафедрой гериатрии и возрастной эндокринологии, Самарский государственный

		медицинский университет, 443099, Россия, Самара, ул. Чапаевская, 89.
6.	Воробьев Константин Владимирович, доктор биологических наук	Профессор высшей школы биомедицинских систем и технологий института биомедицинских систем и технологий, Санкт- Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 11.

Предполагаемый срок защиты:

8 июля 2022 г

Председатель комиссии:

з.д.н. РФ, доктор медицинских наук,
профессор

Г.А. Рыжак

Члены комиссии:

з.д.н. РФ, доктор биологических наук,
профессор

А.В. Арутюнян

доктор биологических наук

И.Г. Попович

6 мая 2022 г.

Подписи з.д.н. РФ, д.м.н., проф. Г.А Рыжак, з.д.н. РФ, д.б.н., проф.
А.В. Арутюняна, д.б.н. И.Г. Попович заверяю

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

