

**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 08.07.2022 г. № 4 о присуждении Пухальской Анастасии Эдуардовне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением» по специальности 3.1.31 – геронтология и гериатрия (биологические науки) принята к защите 6 мая 2022 г., протокол № 3 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 Пухальская Анастасия Эдуардовна, 1996 г. рождения, в 2020 г. окончила Военно-медицинскую академию имени С.М. Кирова МО РФ по специальности «лечебное дело» с получением квалификации «врач-лечебник». (диплом 1078270008351, рег. номер 7/94).

С 01.04.2019 г. по 29.06.2020 г. А.Э. Пухальская работала в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» в должности лаборанта-исследователя лаборатории возрастной патологии сердечно-сосудистой системы отдела клинической геронтологии и гериатрии. С 30.06.2020 г. по 11.07.2021 г. А.Э. Пухальская работала в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» в должности научного сотрудника лаборатории возрастной патологии сердечно-сосудистой системы отдела клинической геронтологии и гериатрии. С 12.07.2021 г. по настоящее время А.Э. Пухальская работает в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» в должности научного сотрудника лаборатории патологической физиологии сердечно-сосудистой системы отдела клинической геронтологии и гериатрии.

Для выполнения кандидатской диссертации на тему: «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 3.1.31 – геронтология и гериатрия (биологические науки) Пухальская Анастасия Эдуардовна с сентября 2020 г. прикреплена соискателем к лаборатории молекулярных механизмов старения отдела биogerонтологии. Тема диссертации и 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») утверждены на заседании Ученого совета Института (Приказ №7 от 09 июля 2020 г.).

Пухальская А.Э. успешно сдала кандидатские экзамены: иностранный язык (английский) – хорошо; история и философии науки – отлично; геронтология и гериатрия (биологические науки) – отлично. Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 51 от 16.06.2021 г. выдана в ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярных механизмов старения отдела биogerонтологии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

**Научный руководитель: Линькова Наталья Сергеевна** – д.б.н., доц., заведующая лабораторией молекулярных механизмов старения отдела биogerонтологии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

**Официальные оппоненты:**

**Чирский Вадим Семенович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, главный патологоанатом Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург,

**Виноградова Ирина Анатольевна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии, организации и экономики фармации медицинского института ВГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, дали **положительные отзывы на диссертацию**.

**Ведущая организация** – ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН в своем положительном отзыве, подписанном заведующим лабораторией физиологии возбудимых мембран ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН доктором биологических наук, профессором Крыловым Борисом Владимировичем и утвержденным ВРИО директора ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН доктором биологических наук Мошонкиной Татьяной Ромульевной, указала, что диссертация А.Э. Пухальской является научной квалификационной работой, в которой на основании самостоятельно выполненных автором исследований сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно квалифицировать, как новое решение актуальной научной проблемы в области геронтологии и гериатрии – описание нового способа предиктивной диагностики болезни Альцгеймера на основе оценки экспрессии сиртуинов в периферических тканях (слюна, буккальный эпителий) и оценки темпа старения организма. Работа вносит значимый вклад в развитие биogerонтологии, а именно биологии старения и молекулярной диагностики нейродегенеративной патологии у людей разного возраста. **Отзыв положительный**, содержит одно замечание: «Единственным недостатком является отсутствие количественного измерения интенсивности флюоресценции при иммунофлюоресцентном окрашивании антителами к

SIRT1. Но количественная морфометрическая оценка в этом случае компенсирует указанный недостаток».

Отзыв на диссертационную работу Пухальской Анастасии Эдуардовны на тему: «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением» обсуждён и одобрен на заседании лаборатории физиологии возбудимых мембран ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН, протокол № 3 от 25 мая 2022 г.

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 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 тезиса докладов.

В публикациях соискателя в полной мере отражены наиболее существенные положения и выводы диссертационной работы. Впервые проведено исследование сиртуинов SIRT1,3,5,6 в качестве возможных маркеров старения организма и развития болезни Альцгеймера. Для оценки темпа старения организма у лиц без нейропатологии информативным является определение экспрессии SIRT1,3,6 в буккальном эпителии. Для предиктивной диагностики болезни Альцгеймера перспективным может быть исследование экспрессии SIRT1,3,6 в буккальном эпителии и концентрации SIRT1,3,5 в слюне у лиц среднего, пожилого и старческого возраста. Авторский вклад в опубликованных работах более 75%. Диссертация не содержит некорректных заимствований.

#### **Наиболее значимые работы по теме диссертации:**

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 // Бюлл. 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. Сиртуины и старение. **А.Э. Пухальская**, И.М. Кветной, Н.С. Линькова, А.С. Дятлова, Е.О. Гутоп, К.Л. Козлов, М.А. Пальцев // Успехи физиологических наук. - 2022. - Т. 53. - № 1. - С. 16–27.
4. 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)

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

**На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:**

1. доктора биологических наук Воробьева Константина Владимировича – профессора высшей школы биомедицинских систем и технологий института биомедицинских систем и технологий, ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург;
2. доктора медицинских наук, профессора Ильницкого Андрея Николаевича – заведующего кафедрой терапии, гериатрии и антивозрастной медицины, Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Москва;
3. доктора медицинских наук, доцента Федорца Виктора Николаевича – профессора кафедры факультетской терапии с курсом эндокринологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ, Санкт-Петербург;
4. доктора медицинских наук, профессора Шишкина Александра Николаевича, заведующего кафедрой факультетской терапии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» Правительства РФ, Санкт-Петербург;
5. доктора медицинских наук, профессора Агаркова Николая Михайловича, профессора кафедры биомедицинской инженерии ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет», Курск;
6. доктора медицинских наук, доцента Никулиной Натальи Николаевны, профессора кафедры госпитальной терапии с курсом медико-социальной экспертизы ФГБОУ ВО «Рязанской государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ, Рязань.

**Все отзывы положительные, замечаний и 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 биogerонтологии и молекулярных аспектов нейродегенеративных заболеваний.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: проведена оценка информативности экспрессии белков семейства сиртуинов (SIRT1, SIRT3, SIRT5, SIRT6) в буккальном эпителии и их концентрации в слюне у лиц без нейропатологии и пациентов с болезнью Альцгеймера среднего, пожилого и старческого возраста; предложен новый метод прижизненной диагностики темпа старения организма и болезни Альцгеймера у лиц старших возрастных групп; доказана перспективность**

**использования** буккального эпителия и слюны в качестве малоинвазивных объектов для предиктивной прижизненной диагностики темпа старения и болезни Альцгеймера у людей среднего, пожилого и старческого возраста.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказана** роль белков семейства сиртуинов в старении организма в норме и при нейродегенеративной патологии у пациентов разного возраста. **Применительно к задаче диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов), использованы** методы иммунофлуоресцентного анализа с применением лазерной сканирующей конфокальной микроскопии и иммуноферментного анализа. **Изложены идеи** использования белков семейства сиртуинов и периферических тканей для оценки темпа старения организма и предикции развития болезни Альцгеймера. **Заложены научные основы** для дальнейшего экспериментального изучения сиртуинов с целью диагностики ассоциированной с возрастом патологии. **Раскрыты** новые молекулярно-клеточные аспекты старения организма человека в норме и при нейродегенеративной патологии. **Изучены** количественные показатели экспрессии сиртуинов в буккальном эпителии и концентрации сиртуинов в слюне с позиций биогеронтологии.

**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» и ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН **новые подходы** к оценке темпа старения организма и предикции болезни Альцгеймера у людей разного возраста, **определены перспективы** использования буккального эпителия и слюны в качестве объектов для оценки темпа старения организма; **представлены рекомендации** по дальнейшему изучению молекулярных механизмов развития болезни Альцгеймера и роли сиртуинов в старении организма; **изложена идея** о том, что оценка количества сиртуинов в буккальном эпителии и слюне может применяться для диагностики старения организма и нейродегенеративных заболеваний, 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; **установлено** качественное совпадение результатов автора с результатами независимых источников по данной тематике.

**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 гиппокампа и буккального эпителия, проведение лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, морфометрию и оценку концентрации сигнальных молекул в слюне методом иммуноферментного анализа. Автор также принимала участие в написании статей, тезисов по материалам диссертационного исследования и смежным областям геронтологии, выступала с докладами на конференциях.

Таким образом, диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, выполненная Пухальской Анастасией Эдуардовной на тему: «Сиртуины в слюне и буккальном эпителии: предикторы нейродегенеративных процессов, ассоциированных со старением» по специальности 3.1.31 – геронтология и гериатрия – 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 роли сиртуинов в старении организма в норме и при болезни Альцгеймера у людей разного возраста. 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 08 июля 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Пухальской Анастасии Эдуардовне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 докторов наук по специальности 3.01.31 – геронтология и гериатрия, участвовавших в заседании, из 15 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 15, против – «нет», недействительных бюллетеней – «нет».

Председатель Диссертационного совета Д 75.2.020.01  
академик РАН, з.д.н. РФ,

д.м.н., профессор

Учёный секретарь Диссертационного совета

Д 75.2.020.01

д.б.н., профессор

08 июля 2022 г.

  
  
Хавинсон Владимир Хацкелевич  
  
Козина Людмила Семеновна