

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 «Экспрессия молекул – маркеров нейродегенеративных заболеваний в головном мозге и периферических тканях у людей пожилого и старческого возраста» выполнена в лаборатории функциональной морфологии отдела клеточной биологии и патологии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

В период подготовки диссертации и по настоящее время соискатель к.т.н. Зуев Василий Александрович работает в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» в лаборатории функциональной морфологии старшим научным сотрудником. В 1989 г. В.А. Зуев окончил с отличием Военно-Медицинскую академию имени С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург по специальности «лечебное дело». В 2002 г В.А. Зуев защитил диссертацию на соискание звания кандидата технических наук на тему «Обеспечение безопасности сельских регионов путем мониторинга энергетических систем и совершенствования технических средств» в диссертационном совете при Санкт-Петербургском аграрном университете (диплом КТ №084474 от 6.12.2002).

К.т.н. В.А. Зуев является соискателем АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» без окончания докторантуры. Научные консультанты: з.д.н. РФ, д.м.н., профессор Кветной Игорь Моисеевич - руководитель отдела клеточной биологии и патологии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» и 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 к.т.н. Зуева Василия Александровича «Экспрессия молекул – маркеров нейродегенеративных заболеваний в головном мозге и периферических тканях у людей пожилого и старческого возраста» принято следующее заключение.

Представленная диссертационная работа к.т.н. Зуева Василия Александровича состоит из введения, обзора литературы, описания результатов собственных исследований, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Текст диссертации изложен на 265 страницах, содержит 3 таблицы, иллюстрирован 118 рисунками. Список литературы содержит 331 источник, из них на русском языке – 32, на английском – 299.

Диссертационная работа к.т.н. Зуева В.А. 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 плана исследования, проведении опытов, статистической обработке и анализе полученных данных. В задачи автора входило сравнение экспрессии маркеров апоптоза и клеточного старения (p16, p53), пептида A $\beta$ 42, протеинкиназы C,  $\tau$ -протеина и  $\alpha$ -синуклеина в гиппокампе, черной субстанции, буккальном эпителии и фибробластах кожи людей пожилого и старческого возраста в норме, при болезни Альцгеймера и при болезни Паркинсона. Автор принимал участие во всех экспериментах, включавших в себя культивирование клеток, иммуноцитохимическое и иммуногистохимическое исследования, микроскопию, морфометрию, анализ полученных данных, их статистическую обработку, написание статей, главы в монографии, тезисов, выступления с докладами на конференциях.

**Актуальность.** Болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона являются нейродегенеративными патологиями, развивающимися преимущественно у людей пожилого и старческого возраста. Наблюдаемое в последнее десятилетие неуклонное старение населения в развитых странах мира приводит к увеличению частоты возникновения нейродегенеративных заболеваний. В связи с этим болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона представляют собой актуальную медико-социальную проблему геронтологии и гериатрии.

Патогенез болезни Альцгеймера связан с поражением гиппокампа и других областей головного мозга, ответственных за формирование памяти. Двумя основными гистологическими признаками болезни Альцгеймера являются накопление в головном мозге пациентов сенильных бляшек и нейрофибриллярных клубков. Формирование нейрофибриллярных клубков в основном связано с внутриклеточным накоплением в нейронах гиперфосфорилированного  $\tau$ -протеина, в то время как сенильные бляшки являются внеклеточными отложениями агрегатов различных бета-



амилоидных пептидов (A $\beta$ ). Главенствующей теорией возникновения болезни Альцгеймера на сегодняшний день является «амилоидная гипотеза», согласно которой повышенная продукция пептида A $\beta$  длиной в 42 аминокислотных остатка (A $\beta$ 42) приводит к потере синаптических связей нейронов в гиппокампе, коре и субкортикальных областях головного мозга. Однако ни «амилоидная гипотеза», ни другие теории происхождения болезни Альцгеймера не дают полного представления о причине этого заболевания.

Применяемая в настоящее время терапия болезни Альцгеймера наиболее результативна на ранних стадиях развития заболевания. Однако именно на ранней стадии дифференциальная диагностика болезни Альцгеймера и других деменций затруднительна. Для диагностики болезни Альцгеймера широко используются критерии NINCDS-ADRDA (the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association), предложенные в 1984 г. В соответствии с этими критериями для постановки диагноза болезни Альцгеймера необходимо подтвердить наличие деменции и исключить все иные причины, основываясь на данных анамнеза, результатах психоэмоционального тестирования и лабораторных показателях. Оценка психоэмоционального состояния не решает проблему ранней диагностики, поскольку становится информативной только при развитии выраженной степени когнитивных нарушений. Объективным показателем является гистологическое подтверждение болезни Альцгеймера методом иммуногистохимии, которое возможно только после смерти пациента. В связи с этим в настоящее время ведется активный поиск периферических тканей (лимфоциты крови, фибробласты кожи, буккальный эпителий, спинномозговая жидкость), которые могут экспрессировать сигнальные молекулы, верифицируемые в гиппокампе и других отделах головного мозга при болезни Альцгеймера.

Болезнь Паркинсона - вторая в мире по распространенности нейродегенеративная патология после болезни Альцгеймера. Это хроническое прогрессирующее заболевание, преимущественно связанное с гибелью нейронов черной субстанции и приводящее к нарушению функции базальных ганглиев в условиях дофаминергического дефицита. Болезнь Паркинсона проявляется сочетанием гипокинезии и ригидности, тремора покоя, постуральной неустойчивостью, психическими и вегетативными расстройствами. Основное отличие болезни Паркинсона от болезни Альцгеймера в том, что последней присущи когнитивные расстройства – в частности, ухудшение памяти и поведенческих функций. В основе болезни Паркинсона лежит расстройство двигательной активности.

В качестве возможных факторов, способствующих развитию болезни Паркинсона, рассматриваются: возраст, генетическая предрасположенность, воздействие факторов окружающей среды, оксидативный стресс. Предполагают, что на молекулярном уровне развитие болезни Паркинсона происходит вследствие нарушения метаболизма  $\alpha$ -синуклеина (образование



телец Леви) в головном мозге. Считается, что окислительный стресс, митохондриальная дисфункция и генетическая предрасположенность приводят к гиперагрегации  $\alpha$ -синуклеина, а накопление агрегированной формы  $\alpha$ -синуклеина является причиной повреждения синапсов и дегенерации дофаминергических и других типов нейронов.

Помимо теории развития болезни Паркинсона, связанной с формированием телец Леви из агрегированной формы  $\alpha$ -синуклеина, существуют также свободнорадикальная и митохондриальная теории развития заболевания. Существующая в настоящее время диагностика заболевания оценивает проявившиеся у пациента моторные симптомы, что обычно означает значительную степень разрушения дофаминергических систем головного мозга.

Принимая во внимание растущую распространенность болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона, важным направлением исследований представляется нахождение методов ранней диагностики болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона. Разработка предиктивных методов диагностики болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона позволит своевременно начинать терапию этих заболеваний, что будет способствовать повышению качества жизни пациентов старших возрастных групп.

**Научная новизна.** В работе впервые проведено сравнительно изучение экспрессии ключевых сигнальных молекул – маркеров болезней Альцгеймера и Паркинсона (пептид  $A\beta_{42}$ ,  $\tau$ -протеин, протеинкиназа C, p16, p53,  $\alpha$ -синуклеин) в гиппокампе и черной субстанции головного мозга и периферических тканях (буккальный эпителий, фибробласты кожи). Такой подход позволил выяснить вклад указанных сигнальных молекул в старение центральной нервной системы в норме и при нейродегенеративных заболеваниях. Впервые установлено, что экспрессия маркеров клеточного старения, вовлеченных в апоптозный сигнальный каскад (p16, p53), повышается при естественном старении и развитии болезней Альцгеймера и Паркинсона в головном мозге и периферических тканях. Впервые показано, что у людей пожилого и старческого возраста в гиппокампе и буккальном эпителии более чем в 7 раз снижается экспрессия протеинкиназы C. В буккальном эпителии у пациентов старших возрастных групп с болезнями Альцгеймера и Паркинсона верифицирована экспрессия  $\tau$ -протеина, пептида  $A\beta_{42}$  и  $\alpha$ -синуклеина – основных молекулярных маркеров этих нейродегенеративных заболеваний. В фибробластах кожи людей пожилого и старческого возраста зарегистрирована только экспрессия пептида  $A\beta_{42}$  и  $\alpha$ -синуклеина, тогда как синтез  $\tau$ -протеина не выявлен.

Эти данные впервые позволили сравнить информативность экспрессии молекул – маркеров болезней Альцгеймера и Паркинсона в периферических тканях – буккальном эпителии и фибробластах кожи. На основании полученных данных можно предложить новый неинвазивный метод ранней диагностики болезней Альцгеймера и Паркинсона.



**Практическая значимость.** Полученные результаты позволяют разработать алгоритм прижизненной диагностики и оценки эффективности терапии болезни Альцгеймера и Паркинсона у лиц старших возрастных групп. Выявленная в ходе исследований экспрессия ключевых молекул – маркеров болезни Альцгеймера (пептид Аβ42, τ-протеин, протеинкиназа-С), болезни Паркинсона (α-синуклеин) и старения (p16, p53) может служить высокоинформативным неинвазивным и простым в исполнении методом диагностики и оценки эффективности лечения болезней Альцгеймера и Паркинсона и ускоренного старения организма.

**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 опубликованы 36 научных работ, в том числе 15 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования материалов диссертационных исследований, 1 монография, 1 учебное пособие, 3 главы в монографиях и 16 тезисов докладов. Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Болезнь Паркинсона: от истории возникновения термина к перспективам прижизненной диагностики /М.А. Пальцев, Е.О. Кожевникова, В.А. Зуев, Н.С. Линькова, Т.В. Кветная, И.М. Кветной// Успехи физиологических наук. – 2018, Т. 49, №2. – С. 3-19.
2. Зуев В.А. Иммунологическая теория патогенеза болезни Альцгеймера: факты и гипотезы /В.А. Зуев // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 4: <http://www.science-education.ru/article/view?id=28961> DOI 10.17513/spno.28961.
3. Зуев В.А. Роль иммунной дисфункции в патогенезе болезни Паркинсона у людей разного возраста /В.А. Зуев // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 3: <http://www.science-education.ru/article/view?id=28904> DOI: 10.17513/spno.28904.
4. Мелатонин как молекулярный маркер возрастной патологии /В.А. Зуев, Н.И. Трифонов, Н.С. Линькова, Т.В. Кветная // Успехи геронтологии. – 2017. -Т. 30. - № 1. - С. 62–69.
5. Молекулярно-клеточные механизмы болезни Альцгеймера / М.А. Пальцев, В.О. Полякова, Н.С. Линькова, Е.М. Пальцева, Т.В. Кветная, В.А. Зуев, И.М. Кветной, В.В. Попучиев // Молекулярная медицина. -2016. –Т.14, №6. – С. 3-10.
6. Молекулярные маркеры ранней диагностики болезни Альцгеймера: перспективы исследования в периферических тканях /М.А. Пальцев, В.А. Зуев, Е.О. Кожевникова, Н.С. Линькова, Т.В. Кветная, В.О. Полякова, И.М. Кветной // Успехи геронтологии – 2017. – Т. 30, №6. – С. 809-817.
7. Перспективы фармакотерапии болезни Альцгеймера /В.А. Зуев, А.С. Дятлова, Н.С. Линькова, И.М. Кветной // Успехи физиологических наук.



2018. Т.49. №4. С. 1-14.
8. Сравнительная характеристика экспрессии пептида Аβ42 и τ-протеина в гиппокампе, фибробластах кожи и буккальном эпителии у пациентов пожилого и старческого возраста с болезнью Альцгеймера / В.А. Зуев, А.С. Дятлова, Н.С. Линькова, И.М. Кветной // Клиническая медицина. 2018. Т. 97. №1. С. 46-51.
  9. Фармакотерапия болезни Паркинсона: молекулярные аспекты и перспективы /М.А. Пальцев, В.А. Зуев, А.С. Дятлова, Н.С. Линькова, Т.В. Кветная // Молекулярная медицина. – 2018. – Т.16, №2. – С. 3-14.
  10. Фибробласты кожи как объект для прижизненной диагностики болезни Паркинсона у лиц разного возраста /В.А. Зуев, А.С. Дятлова, Н.С. Линькова, И.М. Кветной, Н.Н. Белушкина, М.А. Пальцев // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2019. №1. С. 63-67.
  11. Фибробласты кожи как объект для прижизненной молекулярной диагностики болезни Альцгеймера /М.А. Пальцев, Н.С. Линькова, В.А. Зуев, В.О. Полякова, Н.Н. Белушкина, И.М. Кветной //Молекулярная медицина – 2018. – Т. 16, №5. – С. 61-64.
  12. Экспрессия α-синуклеина и пептида Аβ42 в черной субстанции и буккальном эпителии при болезни Паркинсона у людей разного возраста /В.А. Зуев, А.С. Дятлова, Н.С. Линькова, В.О. Полякова, И.М. Кветной, М.А. Пальцев, У.Ф. Гашимова, А.М. Гаджиев // Молекулярная медицина. 2018. – Т. 16, № 6. – С. 35–40.
  13. Экспрессия Аβ42, τ-протеина, р16, р53 в буккальном эпителии: перспективы диагностики болезни Альцгеймера и темпа старения организма /В.А. Зуев, А.С. Дятлова, Н.С. Линькова, Т.В. Кветная // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т.166, №11. – С. 627-631.
  14. Аβ42 – Перспективный неинвазивный маркер для прижизненной диагностики болезни Альцгеймера /В.А. Зуев, Н.С. Линькова, В.О. Полякова, Е.М. Пальцева, Т.В. Кветная, Е.О. Куканова // Молекулярная медицина – 2017. – Т.15. - №1. – С. 24-27.
  15. Inflamm-aging: молекулярное подтверждение роли медиаторов воспаления в патогенезе болезни Альцгеймера /И.М. Кветной, Н.С. Линькова, А.С. Дятлова, В.А. Зуев, Т.В. Кветная // Медицинский академический журнал. 2019. Специальный выпуск. С. 88 – 91.
  16. Нейродегенеративные заболевания (в соавторстве с М.А. Пальцевым И.М. Кветным, В.А. Зуевым, Н.С. Линьковой, Т.В. Кветной). Молекулярные основы патогенеза, прижизненной персонифицированной диагностики и таргетной фармакотерапии. Серия «Молекулярная патология». СПб., «Эко Вектор», 2019. 200 с.

**Апробация работы.** Основные материалы диссертации доложены на международном форуме «Старшее поколение» (Санкт-Петербург, 2016, 2017, 2018); научно-практической конференции с международным участием «Проблемы возрастной патологии в Арктическом регионе: биологические, клинические и социальные аспекты» (Якутск, 2016); научной конференции «Биология и фундаментальная медицина в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2016); VI Национальном конгрессе геронтологов и гериатров



Украины (Киев, 2016); XXI Всероссийской конференции «Нейроиммунология. Рассеянный склероз» (Санкт-Петербург, 2017); Научно-практической конференции «Инновационные российские технологии в геронтологии и гериатрии» (Санкт-Петербург, 2017); конференции с международным участием «Неделя науки СПбПУ» (Санкт-Петербург, 2018); XIII Международном форуме «Старшее поколение» (Санкт-Петербург, 2018); всероссийской конференции «Пушковские чтения» (Санкт-Петербург, 2018); XIV международном форуме «Старшее поколение» (Санкт-Петербург, 2019).

**Соответствие диссертации специальности.**

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, объему исследований, глубине анализа и обобщения материала диссертационная работа кандидата технических наук Зуева Василия Александровича 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 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.30 – геронтология и гериатрия.

Диссертация «Экспрессия молекул – маркеров нейродегенеративных заболеваний в головном мозге и периферических тканях у людей пожилого и старческого возраста» Зуева Василия Александровича рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.01.30 – 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 №3 от 13 февраля 2020 г.

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



Г.А. Рыжак

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

Т.В. Кветная