

**Заключение экспертной комиссии диссертационного совета
Д 521.103.01 01 при Автономной научной некоммерческой
организации высшего образования Научно-исследовательский центр
«Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»
по диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук ЗУЕВА Василия Александровича
на тему: «Экспрессия молекул – маркеров нейродегенеративных
заболеваний в головном мозге и периферических тканях у людей
пожилого и старческого возраста»**

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

Комиссия ознакомилась с диссертацией и представленными документами.

Работа выполнена в лаборатории функциональной морфологии отдела клеточной биологии и патологии 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 научных консультантов з.д.н. РФ, д.м.н., профессора И.М. Кветного и д.б.н., доцента Н.С. Линьковой.

Диссертация была апробирована 13 февраля 2020 г. протокол №3 на совместном заседании отделов биogerонтологии, клеточной биологии и патологии, клинической геронтологии и гериатрии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» и рекомендована к защите на Диссертационном совете Д 521.103.01 по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальности 14.01.30 - геронтология и гериатрия.

Актуальность исследования. Болезнь Альцгеймера (БА) и болезнь Паркинсона (БП) 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 БА и БП представляют собой актуальную медико-социальную проблему геронтологии и гериатрии.

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

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

Применяемая в настоящее время терапия БА наиболее результативна на ранних стадиях развития заболевания. Однако именно на ранней стадии дифференциальная диагностика БА и других деменций затруднительна. Для диагностики БА 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 БА 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 БА 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 (СМЖ)), которые могут экспрессировать сигнальные молекулы, верифицируемые в гиппокампе и других отделах головного мозга при БА.

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

В качестве возможных факторов, способствующих развитию БП, рассматриваются: возраст, генетическая предрасположенность, воздействие факторов окружающей среды, оксидативный стресс. Предполагают, что на молекулярном уровне развитие БП происходит вследствие нарушения метаболизма α -синуклеина (образование телец Леви) в головном мозге. Считается, что окислительный стресс,

митохондриальная дисфункция и генетическая предрасположенность приводят к гиперагрегации α -синуклеина, а накопление агрегированной формы α -синуклеина является причиной повреждения синапсов и дегенерации дофаминергических и других типов нейронов.

Помимо теории развития БП, связанной с формированием телец Леви из агрегированной формы α -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 БА и БП, важным направлением исследований представляется нахождение методов ранней диагностики БА и БП. Разработка предиктивных методов диагностики БА и БП позволит своевременно начинать терапию этих заболеваний, что будет способствовать повышению качества жизни пациентов старших возрастных групп.

Наиболее значимые результаты, полученные в работе. При переходе от пожилого к старческому возрасту повышается экспрессия маркеров апоптоза и клеточного старения (p16, p53) в гиппокампе, черной субстанции, буккальном эпителии и фибробластах кожи. При нейродегенеративных заболеваниях этот процесс более выражен, чем «в норме». Выявлен сходный характер зависимости экспрессии маркера клеточного старения p16 между клетками гиппокампа и буккального эпителия у людей пожилого и старческого возраста «в норме» и при БА.

У людей пожилого и старческого возраста при БА и БП экспрессия пептида A β 42 в клетках буккального эпителия (в большей степени) и фибробластах кожи (в меньшей степени) увеличивается, что отражает сходный процесс в головном мозге.

У людей пожилого и старческого возраста при БА экспрессия протеинкиназы C в гиппокампе и буккальном эпителии снижается, а в фибробластах кожи не изменяется. Экспрессия протеинкиназы C в головном мозге и периферических тканях пациентов с БП не зависит от возраста и наличия заболевания.

У людей пожилого и старческого возраста при БА и БП экспрессия τ -протеина в клетках буккального эпителия увеличивается, что отражает сходный процесс в головном мозге у этих пациентов.

1. У лиц пожилого и старческого возраста при БА и БП экспрессия α -синуклеина в периферических тканях (буккальный эпителий, фибробласты кожи) увеличивается, что отражает сходный процесс в головном мозге у этих пациентов.

2. Изучение экспрессии сигнальных молекул (пептида A β 42, τ -протеина, протеинкиназы C, маркера клеточного старения p16, маркера апоптоза p53, α -синуклеина) в буккальном эпителии может использоваться для

прижизненной неинвазивной диагностики БА и БП у лиц пожилого и старческого возраста.

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

Новизна работы. В работе впервые проведено сравнительное изучение экспрессии БА и БП (пептид А β 42, τ -протеин, протеинкиназа С, p16, p53, α -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 БА и БП 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 С. В буккальном эпителии у пациентов старших возрастных групп с БА и БП верифицирована экспрессия τ -протеина, пептида А β 42 и α -синуклеина – основных молекулярных маркеров этих нейродегенеративных заболеваний. В фибробластах кожи людей пожилого и старческого возраста зарегистрирована только экспрессия пептида А β 42 и α -синуклеина, тогда как синтез τ -протеина не выявлен.

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

Теоретическая значимость. На основе проведенного В.А. Зуевым исследования обосновано, что экспрессия ряда сигнальных молекул в периферических тканях (фибробласты кожи, буккальный эпителий) может отражать развитие системных нейродегенеративных заболеваний (БА и БП) у людей старших возрастных групп.

Практическая значимость. Полученные результаты позволяют разработать алгоритм прижизненной диагностики и оценки эффективности терапии БА и БП у лиц старших возрастных групп. Выявленная в ходе исследований экспрессия ключевых молекул – маркеров БА (пептид А β 42, τ -протеин, протеинкиназа-С), БП (α -синуклеин) и старения (p16, p53) может служить высокоинформативным неинвазивным и простым в

исполнении методом диагностики и оценки эффективности лечения БА, БП и ускоренного старения организма.

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. Для прижизненной неинвазивной диагностики БА и БП у людей пожилого и старческого возраста рекомендуется изучение экспрессии сигнальных молекул (пептида А β 42, τ -протеина, α -синуклеина, протеинкиназы С, маркера клеточного старения p16 и маркера апоптоза p53) в буккальном эпителии и фибробластах кожи методом иммуноцитохимии.

Для оценки темпа старения организма и нервной системы у людей пожилого и старческого возраста рекомендуется изучение экспрессии маркеров апоптоза и клеточного старения p16 и p53 в буккальном эпителии методом иммуноцитохимии.

Заключение. На основании вышеизложенного, диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук Зуева Василия Александровича на тему: «Экспрессия молекул – маркеров нейродегенеративных заболеваний в головном мозге и периферических тканях у людей пожилого и старческого возраста» 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), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, содержит решение актуальной для современной молекулярной и клинической геронтологии задачи: прижизненной молекулярной диагностики нейродегенеративных заболеваний у лиц старших возрастных групп и может быть принята к защите по специальности 14.01.30 – 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, кафедра патологической анатомии, заведующий кафедрой, главный патологоанатом Министерства обороны РФ, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6.

Виноградова Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», 185910, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33.

Павлова Татьяна Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный

исследовательский университет», 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85.

Предлагается направить работу Зуева Василия Александровича «Экспрессия молекул – маркеров нейродегенеративных заболеваний в головном мозге и периферических тканях у людей пожилого и старческого возраста» 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.б.

Предлагается список специалистов, которым необходимо направить автореферат в дополнение к основному списку рассылки:

1.	Доросевич Александр Евдокимович, доктор медицинских наук, профессор	Директор Смоленского областного НИИ патологии, зав. кафедрой патологической анатомии Смоленского государственного медицинского университета, 214019, Россия, Смоленская обл., г. Смоленск, ул. Крупской, 28.
2.	Федорина Татьяна Александровна, доктор медицинских наук, профессор	Зав. кафедрой патологии Самарского государственного медицинского университета, 443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 89.
3.	Марьянович Александр Тимурович, доктор биологических наук, профессор	Зав. кафедрой нормальной физиологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, 195067, Россия, г. Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47.
4.	Ильницкий Андрей Николаевич, доктор медицинских наук, профессор	Зав. кафедрой терапии, гериатрии и антивозрастной медицины, Институт повышения квалификации ФМБА, 125371, Россия, Москва, Волоколамское шоссе, 91.

5.	Шишкин Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор	Зав. кафедрой факультетской терапии, Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9.
6.	Булгакова Светлана Викторовна, доктор медицинских наук, доцент	Зав. кафедрой гериатрии и возрастной эндокринологии, Самарский государственный медицинский университет, 443099, Россия, Самара, ул. Чапаевская, 89.
7.	Воробьев Константин Владимирович, доктор биологических наук	Профессор кафедры «Медицинская физика ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», 195251, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 11.
8.	Внуков Валерий Валентинович доктор биологических наук, профессор	Зав. кафедрой биохимии, ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет», 344006 Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105/42.

Предполагаемый срок защиты:

16 декабря 2020 г

Председатель комиссии:

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

А.В. Арутюнян

Члены комиссии:

доктор биологических наук,
профессор

Н.И. Чалисова

доктор биологических наук

И.Г. Попович

14 сентября 2020 г.

Подпись зав. кафедрой
Н.В. Соколов
Институт биорегуляции
и геронтологии

Ин-т «Санкт-Петербургский»
и геронтологии
Н.В. Соколов