

**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
кандидата биологических наук ОРЛОВОЙ Оксаны Анатольевны
на тему: «Влияние пептидов эпифиза на фибробласты кожи при старении»**

Для рассмотрения работы О.А. Орловой 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.м.н., проф. И.М. Кветной, д.б.н. И.Г. Попович Комиссия ознакомилась с диссертацией и представленными документами.

Работа выполнена в лаборатории молекулярных механизмов старения Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии») под руководством д.б.н. Н.С. Линьковой.

Диссертация была апробирована 17 апреля 2017 г. протокол №2 на совместном заседании отделов биogerонтологии, клеточной биологии и патологии, клинической геронтологии и гериатрии АНО 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. В последние годы большое число исследований посвящено изучению старения организма. Прогрессирующее увеличение доли лиц пожилого и старческого возраста в общей численности населения становится актуальной медицинской, социальной и экономической проблемой. Средняя продолжительность жизни людей за последние 20 лет в России увеличилась на 10%, а в Европе - на 15%. Первые признаки старения отмечаются в коже, выполняющей, прежде всего, барьерную функцию и наиболее подверженной неблагоприятному воздействию внешней среды. Инволютивные изменения в коже характеризуются дисфункцией защитного барьера. Кроме того, старение кожи имеет выраженные внешние проявления и способствует возникновению неблагоприятного эстетического восприятия, что особенно важно для людей, работа которых связана с активной социальной жизнью. Таким образом, старение кожи имеет функционально-физиологическое и социальное значение, что обуславливает актуальность данной проблемы. На клеточном уровне старение кожи и других органов и тканей проявляется в нарушении синтеза ряда сигнальных молекул, белков и пептидов. Темп возрастной инволюции кожи определяется изменением соотношения вступивших в апоптоз и пролиферацию клеток, что, в свою очередь, связано с балансом экспрессии про- и антиапоптотических белков. Согласно современным представлениям, обновление клеточного состава кожи осуществляется за счет постоянно протекающих процессов пролиферации и дифференцировки полипотентных клеток,

расположенных на базальной мембране эпидермиса и на волосяных фолликулах. Полипотентные клетки базального эпидермиса поддерживают пул кератиноцитов, клетки волосяного фолликула способны дифференцироваться в кератиноциты и в различные типы клеток дермы. Для активации и регуляции процессов клеточного обновления необходим каскад физиологических реакций, реализуемый цитокинами, факторами роста и другими сигнальными молекулами, синтез которых регулируется микроокружением и непосредственно фибробластами кожи. Вследствие возрастного снижения функциональной активности клеток кожи количество синтезируемых в ней сигнальных молекул и эндогенных пептидов становится недостаточным для пролиферации и дифференцировки фибробластов кожи. То есть при старении на клеточном и субклеточном уровне организации наблюдается нарушение синтеза пептидов. Кроме того, возрастная инволюция организма связана с потерей чувствительности к пептидам клетками-мишенями в различных органах и тканях. Поиск новых эффективных и безопасных низкомолекулярных веществ, стимулирующих процессы регенерации кожи, является актуальной задачей геронтокосметологии. Регуляция репаративных процессов в тканях организма может осуществляться короткими пептидами. Применение коротких пептидов является одной из инноваций в медицине и позволяет существенно замедлить темпы старения за счет стимуляции пролиферации и регенерации тканей. По данным ранее проведенных экспериментов в культурах клеток и на животных пептид AEDG обладает антиоксидантной активностью, регулирует синтез мелатонина, обладает иммуностимулирующими свойствами, снижает риск развития опухолевых заболеваний, регулирует функциональную активность нейроиммуноэндокринной системы, способствует увеличению длины теломер в нормальных фибробластах и преодолению лимита Хейфлика. Применение пептида AEDG у животных приводило к замедлению процессов старения, снижению темпов развития возрастной патологии и увеличению продолжительности жизни. На органотипических культурах клеток кожи крыс разного возраста было показано, что пептид AEDG стимулирует рост эксплантатов. Полипептидный комплекс эпифиза (ППЭ) выделен из эпифиза головного мозга телят, и является эффективным средством в лечении гормонозависимых опухолей, дисгормональной миокардиодистрофии, последствий стрессорных воздействий на организм, восстанавливает гистологическую структуру селезенки после эпифизэктомии и способствуют нормализации ее иммунной функции. Таким образом, физиологическая стимуляция пептидами может способствовать восстановлению функционирования кожи на молекулярно-клеточном уровне. В основе молекулярного механизма действия коротких пептидов лежит их способность эпигенетически регулировать экспрессию генов, синтез белков и активировать пролиферацию и дифференцировку клеток. Использование коротких пептидов в эстетической медицине с целью профилактики возрастных изменений организма может способствовать торможению дегенеративных изменений в коже.

Наиболее значимые результаты, полученные в работе. Установлено, что пептид AEDG и ППЭ снижают уровень апоптоза в фибробластах кожи при их старении, оцениваемый по экспрессии белков p53, p16. При этом ППЭ оказывает более выраженное действие в «молодых» и «старых» культурах клеток кожи. Впервые показано, что пептид AEDG повышает экспрессию белка репарации Sirtuin-6 в «молодых» культурах, а ППЭ стимулирует экспрессию Sirtuin-6 в «старых» культурах фибробластов кожи. Пептид AEDG и ППЭ повышают экспрессию гликопротеина CD98hc в «старых» культурах, не влияя на этот показатель в «молодых» культурах клеток кожи. ППЭ стимулирует снижающуюся при клеточном старении экспрессию транскрипционного фактора Ki67 в «молодых» и «старых» культурах фибробластов, причём его эффект более выражен, чем у пептида AEDG. Впервые показано, что пептид AEDG повышает экспрессию белка MMP9, вовлеченного в ремоделирование межклеточного матрикса, в «молодых» и «старых» фибробластах кожи.

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

Новизна работы. При изучении кривой клеточного роста фибробластов кожи впервые установлено, что эффективная концентрация для пептида AEDG составляет 100 нг/мл, а для ППЭ - 1000 нг/мл. В работе впервые проведено сравнительное изучение влияния пептида AEDG и ППЭ на экспрессию сигнальных молекул (p53, p16, Caspase-3, Sirtuin-6, CD98hc, MMP9, Ki67) в культурах фибробластов кожи при их старении пассажами.

Теоретическая значимость. На основе проведенного О.А. Орловой исследования объяснен молекулярный механизм пептидной регуляции фибробластов кожи при их старении.

Практическая значимость. Полученные результаты позволили провести сравнительный анализ молекулярных механизмов биологической активности пептида AEDG и ППЭ в отношении пула сигнальных молекул – маркеров обновления и процессов клеточного старения - p53, p16, Caspase-3, Sirtuin-6, CD98hc, MMP9, Ki67. Полученные данные свидетельствуют о том, что использование пептида AEDG и ППЭ может являться эффективным методом повышения функциональной активности фибробластов кожи.

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

Полученные соискателем результаты могут быть рекомендованы для использования в научно-исследовательской работе по изучению влияния пептидов эпифиза на культуры фибробластов кожи при их старении, на состояние кожи животных в моделях ускоренного старения и при естественном старении, а также в учебном процессе по программам магистерской подготовки по

специальностям «биология», «биофизика», «медицинская физика», в программах последиplomного образования врачей по специальностям «косметология», «гериатрия».

По материалам диссертации опубликовано 30 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования материалов диссертационных исследований, 4 главы в книге, 4 статьи в других журналах и 18 тезисов докладов. Автореферат и опубликованные по теме диссертации научные работы полностью отражают основные научные результаты диссертационного исследования.

Заключение. На основании вышеизложенного, диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук Орловой Оксаны Анатольевны на тему: «Влияние пептидов эпифиза на фибробласты кожи при старении» 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 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, содержит решение актуальной для современной геронтологии и гериатрии задачи: изучению новых аспектов молекулярных механизмов действия пептидов эпифиза в отношении культур фибробластов кожи старении и может быть принята к защите по специальности 14.01.30 – геронтология и гериатрия (биологические науки).

В качестве официальных оппонентов предлагаются:

Виноградова Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии, организации и экономики фармации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Петрозаводский государственный университет», 185910, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33.

Смирнова Ирина Олеговна, доктор медицинских наук, профессор, профессора кафедры инфекционных болезней, эпидемиологии и дерматовенерологии ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. д.7-9.

Предлагается направить работу Орловой Оксаны Анатольевны «Влияние пептидов эпифиза на фибробласты кожи при старении» на отзыв Ведущего учреждения в Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физиологии им. И.П. Павлова» Российской академии наук (ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН), 194044, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.б.

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

1.	Шишкин Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор	ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Медицинский факультет, кафедра факультетской терапии, 199106, Россия, г. Санкт-Петербург, 21-ая
----	---	---

		линия Васильевского острова, д.8А
2.	Гончарова Надежда Дмитриевна, доктор биологических наук, профессор	лаборатория эндокринологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии», 354376, Краснодарский край, г.Сочи, Адлерский р-он, с.Весёлое, ул.Мира, д.177
3.	Кузник Борис Ильич, доктор медицинских наук, профессор	ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» МЗ РФ, 672000 г.Чита, ул.Горького, 39А
4.	Михельсон Виктор Михайлович, доктор биологических наук, профессор	Лаборатория радиационной цитологии ФГБУН Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург Тихорецкий проспект 4.
5.	Прощаев Кирилл Иванович, доктор медицинских наук, профессор	ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства», 125371, Москва, шоссе Волоколамское, 91
6.	Воробьев Константин Владимирович, доктор биологических наук	Кафедра «Медицинская физика ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», 195251, Санкт-Петербург, ул. Хлопина д.11
7.	Авдалян Ашот Меружанович, доктор медицинских наук	лаборатория молекулярной диагностики Алтайского филиала ФГБУ «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина» МЗ РФ, 656049, Барнаул, ул. Никитина, д.77

Предполагаемый срок защиты:

«24» ноября 201 г.

Председатель комиссии:

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

Г.А. Рыжак

Члены комиссии:

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

И.М. Кветной

доктор биологических наук

И.Г. Попович

«5» сентября 2017г.

