

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

«21» декабря 2010 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Автономной научной некоммерческой организации высшего образования научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»

Диссертация «Экспрессия сигнальных молекул в клетках эндометрия человека при их старении *in vitro*» 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 Григорян Инна Юрьевна работает в АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» в лаборатории в лаборатории функциональной морфологии научным сотрудником. В 2010 году И.Ю. Григорян окончила ГОУ ВПО «Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова» ФАЗСР, г. Москва по специальности «Лечебное дело».

И.Ю. Григорян является соискателем АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» без окончания аспирантуры. Справка № 4533 о сдаче кандидатских экзаменов выдана 02 марта 2018 г. в ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России.

Научный руководитель: заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор медицинских наук Кветной Игорь Моисеевич – заведующий отделом клеточной биологии и патологии АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (по совместительству), руководитель отдела патоморфологии ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта».

Научный консультант: профессор РАН, профессор, доктор биологических наук Полякова Виктория Олеговна работает руководителем лаборатории иммунологии старения АНО НИЦ «Санкт-Петербургский

институт биорегуляции и геронтологии» (по совместительству), заведующая лабораторией клеточной морфологии ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта».

По итогам обсуждения диссертации Григорян Инны Юрьевны «Экспрессия сигнальных молекул в клетках эндометрия человека при их старении *in vitro*» принято следующее заключение:

Представленная диссертационная работа Григорян Инны Юрьевны состоит из введения, 3 глав, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Текст диссертации изложен на 102 страницах, иллюстрирован 13 рисунками. Список литературы содержит 159 источников, из них отечественных – 63, зарубежных – 96.

Диссертационная работа Григорян И.Ю. выполнена на высоком научном уровне с использованием современных экспериментальных методов.

Все результаты, представленные в диссертации, получены при непосредственном участии автора.

Личный вклад автора состоял в планировании, проведении экспериментов, статистической обработке и анализе данных по экспрессии различных сигнальных молекул в клетках эндометрия при его старении в культуре. В ходе выполнения исследования отработана и стандартизирована методика создания первичной культуры эндометрия человека с последующим применением метода иммуоцитохимии и световой микроскопии. Автор принимала участие во всех экспериментах, включавших культивирование клеток, их окрашивание, микроскопию, морфометрию и статистический анализ данных.

Актуальность. Изучение молекулярно-клеточных механизмов нейроиммуноэндокринной регуляции функциональной активности эндометрия при его возрастной инволюции является актуальной задачей молекулярной и репродуктивной медицины, т.к. при нарушении функции эндометрия возникает ряд таких социально-значимых заболеваний как бесплодие и онкологическая патология репродуктивной системы женщин.

Понимание молекулярных механизмов нейроиммуноэндокринной регуляции функций эндометрия в норме, при старении и патологии позволит разработать новые, эффективные и безопасные способы диагностики и лечения указанных заболеваний. Циклические изменения эндометрия во время менструального цикла обусловлены функционированием нейроиммуноэндокринной системы, молекулярные связи в которой с возрастом нарушаются. Эти молекулярно-клеточные проявления старения регуляторных систем организма лежат в основе возрастной инволюции эндометрия и являются одной из причин развития гиперпластических процессов. Нервная и эндокринная системы объединяются гипоталамусом, нейросекреторные клетки которого занимают промежуточное положение между нервными и железистыми. Различают 2 вида гипоталамических

секретов, влияющих на гормонообразующие функции гипофиза - релизинг-факторы и ингибирующие факторы. Гипоталамус осуществляет свое влияние на периферический эндокринный аппарат через гипофиз, который, в свою очередь, выделяет гонадотропные гормоны (фолликулостимулирующий, лютеинизирующий и пролактин). До периода полового созревания базальная секреция гонадотропных гормонов происходит без участия гипоталамуса. При достижении половой зрелости гипоталамические секреты обуславливают последовательное (циклическое) повышение продукции гонадотропных гормонов, что обеспечивает рост и созревание фолликула, овуляцию, образование желтого тела и сопровождается повышением количества эстрогенов в 1 фазу. При старении женской репродуктивной системы уровень синтеза гипофизарных и гипоталамических гормонов изменяется, а чувствительность к ним клеток-мишеней снижается.

Установлено, что гиперпластические изменения в эндометрии возникают в результате нарушения нейроэндокринной регуляции, вследствие чего резко изменяется соотношение гонадотропных и половых гормонов. В основе образования гиперплазий эндометрия может лежать возрастное нарушение овуляции. По мере старения организма увеличивается активность гипоталамического центра, регулирующего секрецию фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). Секреция ФСГ возрастает, вызывая компенсаторное усиление деятельности яичников: яичники начинают в возрастающем количестве выделять вместо классических эстрогенов (эстрадиола и эстрона) так называемые неклассические фенолстероиды. Имеется сообщение о том, что источником гиперэстрогении (особенно в менопаузе) следует считать избыточную массу тела и обусловленную этим повышенную ароматизацию андрогенов в эстрогены в жировой ткани. Таким образом, неспецифические для репродуктивной системы нарушения жирового обмена опосредовано, через измененный стероидогенез, приводят к гиперэстрогении и возникновению гиперпластических процессов эндометрия.

Уровень экспрессии сигнальных молекул эндометрия отражает его функциональное состояние в норме, при старении и различной патологии. Кроме того, верифицированные в эндометрии молекулярные маркеры позволяют проследить процессы нейроиммуноэндокринной регуляции эндометрия, что является важнейшим условием его нормального функционирования. Так, в норме в эндометрии человека синтезируются эстроген, прогестерон, эстрадиол, прогестин, молекулы клеточной адгезии, факторы роста, цитокины, маркеры различных субпопуляций иммунных клеток, муцины и белки теплового шока. Изменение уровня экспрессии указанных сигнальных молекул лежит в основе таких социально-значимых заболеваний и возрастной патологии как эндометриоз, новообразования эндометрия и бесплодие. Понимание фундаментальных молекулярных механизмов регуляции функций эндометрия широко используется для решения актуальных задач акушерства и гинекологии и молекулярной

медицины. Однако в настоящее время вопрос о том, какие именно сигнальные молекулы участвуют в процессе старения эндометрия, до сих пор остается недостаточно изученным.

Научная новизна. Впервые показано, что с возрастом в эндометрии изменяется экспрессия различных сигнальных молекул, участвующих в регуляции пролиферации (Ki67), апоптоза (Fas-L, p53, Caspase-3), эндокринных взаимоотношениях (рецепторы к прогестерону и эстрогену), неоваскулогенезе (CD34). Установлено, что наибольшим возрастным изменением, в 6-8 раз, подвержена экспрессия молекул Ki67 и CD34 у женщин при переходе от среднего к пожилому возрасту (ранняя менопауза). Впервые сделано заключение о том, что снижение пролиферативной активности эндометрия, обусловленное нарушением процесса неоваскулогенеза, является одной из причин ускоренного старения и снижения функциональной активности эндометрия. Кроме того, впервые показано возрастное нарастание процесса апоптоза в эндометрии, характеризующееся гиперэкспрессией молекул p53 и Caspase-3. Полученные данные впервые позволили установить, что восприимчивость к гормонам в эндометрии у женщин с возрастом снижается. Установлено, что в эндометрии женщин пожилого возраста количество рецепторов к эстрогенам и прогестерону в 2 раза ниже по сравнению с данными показателями у молодых женщин, что указывает на нарушение эндокринной функции этой ткани. Эти данные впервые позволили дополнить сведения об атрезии фолликулов в менопаузальном периоде, которые, не достигая зрелости, погибают. Проведенное нами исследование позволило установить, что на молекулярном уровне атрезия фолликулов связана со снижением экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону. Установленное нами уменьшение количества рецепторов к гормонам в эндометрии снижает риск развития гиперплазии и онкологических заболеваний эндометрия у женщин среднего и пожилого возраста по сравнению с молодыми женщинами.

Практическая значимость. Установлено, что пролиферативный маркер Ki67, проапоптотический протеин p53 и рецепторы к эстрогену и прогестерону являются наиболее значимыми маркерами для оценки возрастных изменений функции эндометрия. Значительное увеличение экспрессии сигнальной молекулы Ki67 и снижение экспрессии p53, вероятно, связано с тем, что с возрастом происходит смещение процессов клеточного обновления эндометрия в сторону повышения клеточной гибели, снижения способности клеток к делению и увеличения вероятности образования опухоли или других заболеваний эндометрия. Установлено, что с возрастом происходит снижение пролиферативного потенциала эндометрия, т.е. снижение экспрессии маркеров CD34 и Ki67. Важно отметить, что дисбаланс между пролиферацией и апоптозом является важным фактором в развитии различных форм патологий эндометрия, особенно в пожилом возрасте. Полученные данные позволили установить, что восприимчивость к гормонам в эндометрии у женщин с возрастом снижается. Гормонально-рецепторный

статус – важнейшая характеристика, определяющая клиническое течение эндометриальной патологии, в частности, выживаемость больных эндометриодным раком тела матки.

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 опубликовано 11 работ: 3 статьи в журналах рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 1 монография, 7 тезисов докладов. Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Григорян И.Ю., Линькова Н.С., Полякова В.О., Пальцева Е.М., Козлов К.Л. Сигнальные молекулы эндометрия: геронтологические и общепатологические аспекты // Успехи геронтологии. – 2015. – Т. 28, №3. – С. 453-461.
2. Григорян И.Ю., Полякова В.О., Линькова Н.С., Куканова Е.О., Пальцева Е.М. Возрастные особенности профиля сигнальных молекул эндометрия: перспективы применения в гинекологии // Молекулярная медицина. – 2015, №3. – С. 48-52.
3. Григорян И.Ю., Линькова Н.С., Козлов К.Л., Мурсалов С.У. Молекулярные аспекты хронического эндометрита у женщин разного возраста // Молекулярная медицина. – 2016. – № 1. – С. 44-49.
4. Пальцев М.А., Айламазян Э.К., Кветной И.М., Печеникова В.А., Полякова В.О., Григорян И.Ю. Молекулярные механизмы заболеваний репродуктивной системы. Санкт-Петербург, Эко-Вектор, 2017. 255 с.

Апробация работы. Результаты диссертационного исследования доложены на XIX Международной научно-практической конференции «Пожилой больной. Качество жизни» (Санкт-Петербург, 2014); на Международной научно-практической конференции «Пушковские чтения» (Санкт-Петербург, 2014); на Международном научно-практическом форуме «Старшее поколение» (Санкт-Петербург, 2015); Российской научно-практической конференции с международным участием «Проблемы возрастной патологии в арктическом регионе: биологические, клинические и социальные аспекты», (Якутия, 2016); Научно-практической конференции «Инновационные российские технологии в геронтологии и гериатрии», посвященной 25-летию Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии (Санкт-Петербург, 2017).

Соответствие диссертации специальности.

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, объему исследований, глубине анализа и обобщения материала диссертационная работа Григорян Инны Юрьевны 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 кандидата биологических наук по специальности 14.01.30 – геронтология и гериатрия.

Диссертация «Экспрессия сигнальных молекул в клетках эндометрия человека при их старении *in vitro*» Григорян Инны Юрьевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата 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 №6 от «20» декабря 2017 г.

Председатель Проблемной комиссии
АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт
биорегуляции и геронтологии»
засл. деят. науки РФ, д.м.н., профессор



Г.А. Рыжак

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

Т.В. Кветная