

Заключение диссертационного совета Д 001.022.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 10 октября 2017 г. г. № 86

О присуждении Гутоп Екатерине Олеговне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Пептидная регуляция старения эндотелия сосудов» по специальностям «03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология» и «14.01.30 – геронтология и гериатрия» принята к защите 4 июля 2017 г., протокол № 79 диссертационным советом Д 001.022.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, д. 12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Гутоп Екатерина Олеговна, 1968 года рождения.

В 1991 году соискатель окончила с отличием Ярославский государственный медицинский институт по специальности «Лечебное дело».

Диссертация выполнена в лаборатории биogerонтологии отдела биogerонтологии Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»).

Научные руководители: заслуженный деятель науки РФ, член-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор Хавинсон Владимир Хацкелевич, заведующий отделом биogerонтологии АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» и доктор биологических наук Линькова Наталья Сергеевна, руководитель лаборатории молекулярных механизмов старения АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

Официальные оппоненты:

1) Виноградова Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакологии, организации и экономики фармации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Петрозаводский государственный университет», г. Петрозаводск

2) Шишкин Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии Медицинского факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, в своем положительном заключении, подписанном Цыганом Василием Николаевичем, заслуженным деятелем науки РФ, профессором, доктором медицинских наук, заведующим кафедры патологической физиологии, указала, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, посвященной актуальной проблеме клеточной биологии и геронтологии – изучению молекулярных механизмов пептидной регуляции старения эндотелия сосудов человека и животных.

Соискатель имеет 17 печатных работ, в том числе 17 работ по теме диссертации, 3 статьи, опубликованных в рецензируемых журналах рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций, 1 главу в монографии, 1 статью в сборнике и 12 тезисов докладов – общим объемом 3,12 условного печатного листа, авторский вклад составил 89%. Диссертация не содержит некорректных заимствований.

Наиболее значимые работы:

1. Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С., Гугоп Е.О., Елашкина

Е.В. Эпигенетические аспекты пептидной регуляции пролиферации эндотелия сосудов при его старении// Успехи геронтологии. – 2014. – Т.27, №1. – С. 108-114.

2. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Елашкина Е.В., Дурнова А.О., Козлов К.Л., **Гутоп Е.О.** Молекулярные аспекты антиатеросклеротического действия коротких пептидов // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2014. - №3. – С. 185-189.

3. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Морозова Е.А., **Гутоп Е.О.**, Елашкина Е.В. Молекулярные механизмы сердечно-сосудистой патологии// Успехи физиологических наук. – 2014. – Т. 45, № 3. – С. 57-65.

4. Линькова Н.С., Тарновская С.И., Костылев А.В., Елашкина Е.В., Ничик Т.Е., Морозова Е.А., **Гутоп Е.О.** Стволовые клетки и короткие пептиды: перспективы применения в геронтологии // Геронтология. Научно-практический журнал. – 2013. – Т. 1, №2. – С. 124-134.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

1. Захаровой Н.О., доктора медицинских наук, профессора кафедры гериатрии и возрастной эндокринологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ;

2. Кузника Б.И., заслуженного деятеля науки РФ, профессора, доктора медицинских наук, почетного заведующего и профессора кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» МЗ РФ;

3. Макарова В.Г., доктора медицинских наук, профессора, генерального директора ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации»;

4. Якуцени П.П., доктора биологических наук, кандидата физико-математических наук, главного научного сотрудника Центра перспективных исследований ФГФОРУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»;

5. Федорца В.Н., доктора медицинских наук, профессора кафедры общей медицинской практики ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

6. Прощаева К.И., профессора, доктора медицинских наук, профессора кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины ФГБОУ ДПО Института повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства;

7. Авдаляна А.М., доктора медицинских наук, заведующего лабораторией молекулярно-генетических характеристик опухолей ФГБУ «Алтайский филиал Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ.

Отзывы положительные, принципиальных критических замечаний не содержат.

Профессор Макаров В.Г. задал три вопроса в качестве дискуссии:

1. В автореферате (стр. 12) отмечено, что стимуляция пролиферации эндотелия может служить одним из механизмов прогрессирования атеросклеротической бляшки. Однако также известно, что протеин Ki-67, наряду с другими маркерами пролиферации (как PCNA и др.) экспрессируется часто во многих, в том числе сосудисто-стромальных новообразованиях, применяется при диагностике опухолей как один из прогностических маркеров. В связи со значительным увеличением экспрессии данного маркера при применении KED и DS возникает вопрос, не могут ли исследуемые пептиды провоцировать развитие ангиопластических процессов в организме.

2. Почему в качестве проапоптотического маркера применялся именно p53? На сегодняшний день известны многие другие пути апоптоза в эндотелиальных клетках, ассоциированные как с семейством белков CD95 (Apo-1 или Fas), так и TNF-R, системой каспаз, белками семейства bcl-2 и др. Проводили ли исследование с применением других маркеров апоптоза, и

существуют ли литературные данные о влиянии исследуемых пептидов на механизмы апоптоза, не связанные с p53?

3. Для оценки экспрессии маркеров Ki-67 и p53 применялся метод измерения площади иммунопозитивной ткани, и автор указывает, что данный параметр характеризует количество клеток, в которых экспрессируется исследуемый маркер. Однако для определения количества клеток, в которых экспрессируется исследуемый маркер, было бы целесообразно посчитать индексы пролиферации и апоптоза (т.е. соотношение иммунопозитивных клеток к общему количеству клеток в поле зрения), т.к. экспрессия маркеров может быть выражена в клетках в разной степени, а согласно данным раздела «Материалы и методы исследования» при определении площади иммунопозитивной ткани данный фактор не учитывался.

Диссертант дал исчерпывающие ответы на эти вопросы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в соответствующей сфере исследований, широкой известностью своими достижениями в рассматриваемых областях медико-биологических наук.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная идея о том, что снижение функциональных характеристик эндотелиальных клеток сосудов человека и животных, выраженное изменением интенсивности экспрессии молекулярных маркеров пролиферации и апоптоза, является одной из определяющих характеристик процессов старения организма; **предложена** оригинальная научная гипотеза о возможности регуляции процессов старения эндотелиоцитов посредством коротких пептидов KED (Lys-Glu-Asp, Везуген) и DS (Asp-Ser); **доказана** перспективность использования коротких пептидов KED и DS, способных образовывать энергетически устойчивые комплексы с ДНК, для разработки нового поколения более эффективных лекарственных средств для терапии

сердечно-сосудистой патологии; **введены** новые представления об эффектах пептидов KED и DS на процессы старения эндотелиоцитов человека и животных, сделаны **заключения**, значимые для разработки нового поколения лекарственных препаратов, направленных на лечение сердечно-сосудистой патологии.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано положение о возникновении функциональных изменений эндотелиальных клеток в процессе старения, заключающихся в изменении экспрессии молекулярных маркеров старения, что раскрывает механизмы снижения функций сердечно-сосудистой системы при старении **применительно к проблематике диссертации результативно** использован широкий спектр молекулярно-биологических методов исследования: методика диссоциированного культивирования эндотелиоцитов человека и животных, метод иммуоцитохимического исследования, метод иммуофлуоресцентной конфокальной микроскопии, морфометрический метод исследования и метод молекулярного моделирования; **изложены** доказательства функциональных изменений эндотелиоцитов человека и животных в процессе старения, а также **приведены** факты об эффективности применения коротких пептидов для регуляции изменений функциональности клеток эндотелия при их старении; **изучены** эффекты коротких пептидов KED и DS на уровень экспрессии молекулярных маркеров пролиферации, апоптоза и ангиогенеза; **получены сведения** о механизме взаимодействия пептидов KED и DS с промоторной зоной белка Ki67, который заключается в связывании пептидов в малой бороздке ДНК с сайтом CATC и образовании водородной связи с O₂ тимина; **раскрыты** эффекты действия коротких пептидов на процессы старения эндотелиоцитов, связанные с пептидной регуляцией процессов пролиферации и апоптоза.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

определены изменения функциональной активности эндотелиоцитов человека и животных при старении, что вносит вклад в понимание роли молекулярных механизмов старения эндотелиоцитов в патогенезе сердечно-сосудистой патологии и может послужить основой для разработки новых препаратов для коррекции их функциональной активности; **представлены** рекомендации по применению короткого пептида KED методом мезотерапии, а также рекомендации по дальнейшему изучению пептида KED в качестве средства для профилактики возрастных заболеваний сердечно-сосудистой системы; **предложено** использовать материалы настоящей работы при дальнейшем изучении молекулярно-клеточных механизмов старения эндотелиоцитов.

Оценка достоверности результатов выявила:

результаты **экспериментальных работ** получены на современном сертифицированном оборудовании, с использованием методов, адекватных поставленным задачам; воспроизводимость результатов показана в достаточном числе независимых экспериментов; **теории и идеи**, изложенные в работе, базируются на анализе полученных автором экспериментальных данных, их сравнении и обобщении с результатами, приводившимися ранее в независимых литературных источниках, и анализе существующих представлений по рассматриваемым вопросам; **установлено** качественное соответствие ряда полученных данных результатам, представленным в независимых источниках по данной тематике; **использованы** адекватные современные методы сбора и обработки исходной информации.

Личный вклад соискателя состоит в его непосредственном участии во всех этапах процесса выполнения диссертационной работы: подборе и анализе литературы по теме диссертации, составлении плана экспериментальных исследований, самостоятельном их выполнении, статистической обработке полученных данных, анализе и интерпретации результатов, их трактовке и обобщении, подготовке публикаций по выполненной работе и апробации её результатов на всероссийских и международных конференциях.

На заседании 10 октября 2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Гутоп Е.О. ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 27 человек, из них 9 докторов наук по специальности 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология (4 д.б.н. и 5 д.м.н.) и 3 доктора медицинских наук по специальности 14.01.30 – геронтология и гериатрия, участвовавших в заседании, из 33 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали:

За – 20, против – 4, недействительных бюллетеней – 3.

Председатель диссертационного совета

д.б.н., доцент



Шамова О.В.

Ученый секретарь диссертационного совета

к.б.н., доцент



Алешина Г.М.

10.10.2017 г.

Подпись

Шамова О.В.; Алешина Г.М.

Удостоверяется

Нач.отд.кадров ФГБНУ

