

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.230.01,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ЦИТОЛОГИИ  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ ЕЛЕНЫ  
ЮРЬЕВНОЙ КОЧЕТКОВОЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение Диссертационного совета от 19 апреля 2019 г. № 240/418

О присуждении **Кочетковой Елене Юрьевной** (Россия) ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «**Роль аутофагии в ответе Ras-экспрессирующих опухолевых клеток на действие киназных ингибиторов**»

По специальности 03.03.04 – "Клеточная биология, цитология, гистология"

**принята к защите** 15.02.2019 (протокол заседания № 239/417) диссертационным советом Д 002.230.01, созданным на базе Федерального Государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии РАН (ИНЦ РАН), адрес: 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., д. 4, утвержден приказом Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012 г. Частичные изменения Совета утверждены приказом Приказом Минобрнауки РФ № 731/нк от 05.11.2013; Приказом Минобрнауки РФ № 155/нк от 09.02.2018; Приказом Минобрнауки РФ № 94/нк от 06.02.2019 г. (Вступил в силу 13.03.2019 г.)

**Соискатель Елена Юрьевна Кочеткова**, 1990 года рождения, в 2014 году окончила Санкт-Петербургский государственный университет с присвоением степени магистра (Биологический факультет, кафедра

цитологии и гистологии). С октября 2014 г. работает в Институте цитологии РАН. С октября 2014 г. по май 2018 г. – старший лаборант-исследователь; а с мая 2018 г. по настоящее время - младший научный сотрудник Лаборатории молекулярных основ дифференцировки клеток Института цитологии РАН.

Диссертация выполнена в Лаборатории молекулярных основ дифференцировки клеток Института цитологии РАН в порядке прохождения очной аспирантуры (1.10.2014 – 29.09.2018).

**Научный руководитель** – кандидат биологических наук **Поспелова Татьяна Викторовна**, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярных основ дифференцировки клеток Института цитологии РАН.

**Официальные оппоненты:**

**Андрей Юрьевич Зарицкий**, доктор медицинских наук, профессор (Институт гематологии, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург),

**Степан Петрович Гамбарян**, доктор биологических наук (Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук», Санкт-Петербург)

**дали положительные отзывы на диссертацию.**

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «**Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова**» Министерства Здравоохранения Российской Федерации в своем положительном заключении, составленном заведующим научным отделом канцерогенеза и онкогеронтологии, д.м.н., чл.-корр. РАН, проф. **Анисимовым Владимиром Николаевичем** и утвержденном

директором ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова», д.м.н. проф. **А.М. Беляевым**, указала, что работа Е.Ю.Кочетковой «Роль аутофагии в ответе Ras-экспрессирующих опухолевых клеток на действие киназных ингибиторов», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – "Клеточная биология, цитология, гистология" обладает выраженной научной новизной. Выводы полностью обоснованы полученными данными. Результаты опубликованы в 6 статьях в рецензируемых научных журналах и 4 тезисах, представлены на научных конференциях, в том числе международных. Представленная работа по научной новизне, актуальности, теоретической и практической значимости и другим параметрам полностью соответствует п.п. 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ, а ее автор, Кочеткова Елена Юрьевна, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – "Клеточная биология, цитология, гистология" и **дала положительный отзыв на диссертационную работу.**

Соискатель имеет 11 опубликованных работ (объемом 11,89 п.л.), в том числе по теме диссертации опубликовано 6 статей в рецензируемых научных журналах и 4 тезисов докладов на российских и международных научных форумах. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных Е.Ю.Кочетковой работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

#### **Наиболее значимые работы по теме диссертации:**

1. **Kochetkova, E.Y.**, Blinova, G.I., Bystrova, O.A., Martynova, M.G., Pospelov, V.A., Pospelova, T.V. Suppression of mTORC1 activity in senescent Ras-transformed cells neither restores autophagy nor abrogates

apoptotic death caused by inhibition of MEK/ERK kinases. Aging, 2018; 10 (11): 3574 - 3589

Статья посвящена роли активности киназы mTOR в регуляции ответа Ras-экспрессирующих опухолевых клеток на киназный ингибитор MEK/ERK-пути.

2. **Kochetkova, E.Y.**, Blinova, G.I., Bystrova, O.A., Martynova, M.G., Pospelov, V.A., Pospelova, T.V. Targeted elimination of senescent Ras-transformed cells by suppression of MEK/ERK pathway. Aging, 2017; 9 (11): 2352 – 2375.

Статья посвящена разработке стратегии элиминации Ras-экспрессирующих опухолевых клеток за счет совместного действия индуктора старения и ингибитора MEK/ERK-пути.

3. **Кочеткова Е.Ю.**, Блинова Г.И., Поспелов В.А., Поспелова Т.В. MEK/ERK-путь необходим для поддержания цитопротективной аутофагии после облучения трансформантов E1A+cHa-Ras» Цитология (2016), №58 (12): 947 – 954.

Статья посвящена роли MEK/ERK-пути в поддержании аутофагии и жизнеспособности Ras-экспрессирующих клеток при действии ионизирующего облучения.

#### **На автореферат поступили отзывы:**

1. Заведующего научным отделом биологии опухолевого роста ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, д.м.н., профессора, чл.-корр. РАН Евгения Наумовича Имянитова. Отзыв положительный без критических замечаний.

2. Заведующего лабораторией фармакологии пептидов отдела биogerонтологии АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», д.б.н. Ирины Григорьевны Попович. Отзыв положительный без критических замечаний.

3. Зав. Кафедрой цитологии и гистологии Биологического факультета Санкт-Петербургского Государственного Университета, д.б.н., профессора Аллы Давыдовны Харазовой. Отзыв положительный, содержит вопрос к соискателю:

«...Исследуя способ повысить чувствительность Ras-экспрессирующих опухолевых клеток крысы и человека к киназному ингибитору MEK/ERK-пути PD, автор показал, что совместное действие индуктора старения ингибитора деацетилаз гистонов бутирата натрия и ингибитора MEK/ERK-пути достоверно снижает жизнеспособность опухолевых клеток за счет неспособности старых клеток завершать аутофагию в ответ на действие киназного ингибитора. Причина этого, согласно полученным результатам, заключается в особенной организации цитоплазмы старых клеток, где лизосомы располагаются в области вокруг ядра, а аутофагосомы по периферии цитоплазмы, что приводит к низкой частоте слияния аутофагосом с лизосомами. В связи с этим возникает вопрос: что при этом происходит с микротрубочками, которые играют важную роль в перемещении аутофагосом к лизосомам, имеются ли у автора какие-нибудь данные в этом отношении?»

4. Заведующего лабораторией клеточной биологии Отделения молекулярной и радиационной биофизики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» Федерального Государственного бюджетного учреждения Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова, к.б.н. Михаила Валентиновича Филатова. Отзыв положительный без критических замечаний.

5. Заведующего лабораторией молекулярных механизмов старения Федерального исследовательского центра «Института цитологии и генетики СО РАН» д.б.н., проф. Натальи Гориславовны Колосовой. Отзыв положительный, содержит критическое замечание:

«...Единственное замечание, которое у меня возникло – это нечеткая формулировка цели работы. Очевидно, речь должна была идти о разработке,

а не об использовании экспериментальных подходов, позволяющих более эффективно элиминировать Ras-трансформированные опухолевые клетки».

6. Старшего научного сотрудника Лаборатории радиационной цитологии Института цитологии РАН, к.б.н., доцента Ирины Михайловны Спивак. Отзыв положительный без критических замечаний.

**В дискуссии принимали участие:**

1. Д.м.н., профессор М.М.Шавловский, член Диссертационного совета
2. Д.б.н., профессор, академик Н.Н.Никольский, член Диссертационного совета
3. Д.б.н. Д.С. Боголюбов, член Диссертационного совета
4. Д.б.н., профессор Я.Ю.Комиссарчик, член Ученого совета ИНЦ РАН
5. Д.б.н. С.Ю.Хайтлина, член Диссертационного совета

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается** высокой квалификацией выбранных специалистов в сфере клеточной биологии, механизмов канцерогенеза и клеточного старения, а также по тематике молекулярных механизмов регуляции клеточной гибели.

**Диссертационный совет отмечает,** что на основании выполненных соискателем исследований:

**разработана** новая успешная стратегия элиминации Ras-экспрессирующих опухолевых клеток, показавшая эффективность не только на линии клеток грызунов, но и на линии Ras-экспрессирующих опухолевых клеток человека;

**предложен** новый подход к инактивации цитопротективных свойств аутофагии, основанный на пространственном разобщении аутофагосом и лизосом;

**определена** роль сигнальных путей AMPK и mTOR в аутофагическом ответе Ras-экспрессирующих опухолевых клеток на ингибирование MEK/ERK-пути;

**доказано**, что AMPK-регулируемая аутофагия является ключевым механизмом спасения Ras-экспрессирующих клеток при действии киназного ингибитора MEK/ERK-пути, и, следовательно, представляет собой ключевую мишень для разработки стратегии терапии Ras-экспрессирующих опухолевых клеток;

**показаны** существенные различия в аутофагическом ответе интактных и индуцированных к старению Ras-экспрессирующих опухолевых клеток на ингибирование MEK/ERK-пути.

**Теоретическая значимость исследования** обоснована тем, что опухоли, характеризующиеся экспрессией онкогенного Ras, плохо поддаются терапии. Ras-экспрессирующие клетки преодолевают про-апоптотическое действие противоопухолевых препаратов и киназных ингибиторов за счет активации процесса цитопротективной аутофагии. В исследовании показано, что индукция старения делает Ras-экспрессирующие клетки чувствительными к киназному ингибитору MEK/ERK-пути за счет пространственного разобщения аутофагосом и лизосом и релокации онкогенного Ras с плазматической мембраны в цитозоль, где он утрачивает свои про-аутофагические и анти-апоптотические функции.

**Применительно к проблематике диссертации результативно** (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован подход для повышения чувствительности Ras-экспрессирующих клеток к действию киназных ингибиторов MEK/ERK-пути;

**изложены** аргументы, основанные на полученных экспериментальных данных в пользу ключевой роли аутофагии в поддержании жизнеспособности Ras-экспрессирующих клеток при действии MEK/ERK-ингибитора путем восстановления целостности пула митохондрий;

**раскрыты** особенности организации цитоплазмы стареющих клеток, которые обуславливают их чувствительность к действию киназного ингибитора MEK/ERK-пути;

**изучены** закономерности аутофагического ответа интактных и стареющих клеток на ингибирование MEK/ERK-пути;

**проведена модернизация** существующих стратегий борьбы с Ras-экспрессирующими опухолевыми клетками.

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

**разработана** новая стратегия борьбы с Ras-экспрессирующими опухолевыми клетками;

**определена** роль AMPK-регулируемой аутофагии в приобретении клетками толерантности к киназному ингибитору MEK/ERK-пути;

**представлены** научные данные, подтверждающие, что индукция клеточного старения повышает чувствительность Ras-экспрессирующих клеток к киназному ингибитору MEK/ERK-пути, приводя к достоверному снижению жизнеспособности и пролиферативной активности клеток.

**Оценка достоверности результатов выявила:**

**результаты** получены на новейшем сертифицированном оборудовании, выбор методов определен спецификой работы и соответствует поставленным задачам, показана воспроизводимость полученных результатов;

**теория** построена на известных, проверяемых данных и согласуется с экспериментальными данными, опубликованными независимыми исследователями;

**идея** базируется на анализе современных данных исследований по тематике диссертации, данным, ранее полученным в лаборатории МОДК, их обобщении и сопоставлении со собственными результатами;

**выполнено** сравнение полученных автором данных с данными, полученными другими исследователями по тематике диссертационного исследования;

**установлено**, что полученные данные согласуются с новейшими результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

**использованы** современные экспериментальные подходы и адекватные им методы анализа данных.

**Личный вклад соискателя состоит в:**

непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, получении, обработке и анализе результатов. Все основные эксперименты (кроме трансмиссионной электронной микроскопии) автор выполнил лично. Автор лично обработал и интерпретировал полученные результаты. Автор лично принимал участие в апробации полученных результатов на российских и научных международных конференциях, а также в подготовке публикаций по теме диссертации.

Диссертация, посвященная роли аутофагии в Ras-экспрессирующих опухолевых клетках на действие киназных ингибиторов, является законченным в рамках поставленных задач научно-квалификационным исследованием, которое содержит решение задачи, имеющей большое значение для разработки методов борьбы со злокачественными опухолями, характеризующимися наличием онкогенного Ras. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных Кочетковой Е.Ю. работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Диссертационная работа по актуальности, новизне, достоверности полученных результатов полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 824 от 24 сентября 2013 года) по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология».

