

Диссертант: Савицкая Маргарита Анатольевна

Тема диссертационной работы: «Селективное влияние сукцината витамина Е на жизнеспособность и клеточную подвижность культивируемых нормальных и опухолевых клеток эпидермального происхождения»

Специальность: 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Отрасль науки: биологические науки

ПРОТОКОЛ № 13

Заседания Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций

Д 501.001.52 на базе МГУ имени М.В. Ломоносова от 13 декабря 2016 года

Председатель совета - д.б.н., профессор В.А. Голиченков

Учёный секретарь - к.б.н. Е.Н. Калистратова

ПОВЕСТКА ДНЯ: Защита диссертации Савицкой Маргариты Анатольевны. В состав
счётной комиссии были избраны: д.б.н Киреев И.И. (предс.),
д.б.н. Смирнова Е.А., д.б.н. Александрова М.А.

ПРИСУТСТВОВАЛИ: д.б.н. Голиченков Владимир Александрович
к.б.н. Калистратова Елена Николаевна
д.б.н. Голиченков Владимир Александрович
д.б.н. Александрова Мария Анатольевна
д.б.н. Бурлаков Александр Борисович
д.б.н. Воротеляк Екатерина Андреевна
д.б.н. Доронин Юрий Константинович
д.б.н. Зацепина Ольга Владимировна
д.б.н. Белоусов Лев Владимирович
д.б.н. Исаев Николай Константинович
д.б.н. Ким Александр Иннокентьевич
д.б.н. Киреев Игорь Игоревич
д.б.н. Макарова Ольга Васильевна
д.б.н. Мелехова Ольга Петровна
д.б.н. Семёнова Мария Львовна
д.б.н. Смирнова Елена Александровна
д.б.н. Ченцов Юрий Сегреевич

СЛУШАЛИ: Защиту диссертации Савицкой Маргариты Анатольевны на тему:
«Селективное влияние сукцината витамина Е на жизнеспособность
и клеточную подвижность культивируемых нормальных
и опухолевых клеток эпидермального происхождения»
на соискание учёной степени кандидата биологических наук по
специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология
гистология.

Научный руководитель: д.б.н., проф. Онищенко Г.Е.

Официальные оппоненты: д.б.н., Домарацкая Елена Ивановна, зав. лабораторией клеточных и
молекулярных основ гистогенеза ФГБУН Институт биологии

развития имени Н.К. Кольцова РАН;
к.б.н., Рыбалкина Екатерина Юрьевна, ст.н.с. лаборатории
генетики опухолевых клеток ФГБУ "Российский онкологический
научный центр им. Н. Н. Блохина" РАМН.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва

ПОСТАНОВИЛИ: На основании результатов тайного голосования членов совета
(за – 16, против – 1, нед. бюл. – 0) считать, что диссертация
соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на
соискание учёной степени кандидата наук и присудить Савицкой
Маргарите Анатольевне учёную степень кандидата биологических
наук.

Открытым голосованием принято заключение диссертационного
совета.

Председатель совета, д.б.н., профессор

/В.А. Голиченков/

Учёный секретарь к.б.н.

/Е.Н. Калистратова/



ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 501.001.52 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 13 декабря 2016 г. № 13

О присуждении Савицкой Маргарите Анатольевне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук. Диссертация «Селективное влияние сукцината витамина Е на жизнеспособность и клеточную подвижность культивируемых нормальных и опухолевых клеток эпидермального происхождения» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 27.09.2016 года, протокол № 8/А, диссертационным советом Д 501.001.52 на базе Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 12, Биологический факультет МГУ), утвержденного приказом Министерства образования и науки РФ № 391/нк от 29.07.2013 г.

Соискатель – Савицкая Маргарита Анатольевна 1987 года рождения. В 2009 году окончила биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, в 2012 году – заочную аспирантуру биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Диссертация выполнена на кафедре клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, где соискатель в данный момент работает в должности научного сотрудника.

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Онищенко Галина Евгеньевна, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский

государственный университет имени М.В. Ломоносова, кафедра клеточной биологии и гистологии биологического факультета, заведующий кафедрой.

Официальные оппоненты:

Домарацкая Елена Ивановна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук, Москва, зав. лабораторией клеточных и молекулярных основ гистогенеза.

Рыбалкина Екатерина Юрьевна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский Онкологический Научный Центр им. Н.Н.Блохина» Минздрава РФ, Москва, лаборатория генетики опухолевых клеток, старший научный сотрудник дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, в своём положительном заключении, подписанном Черниковым Валерием Петровичем, кандидатом медицинских наук, заведующим лабораторией патологии клетки, указала, что «...диссертационная работа М.А. Савицкой ... содержит новые данные и положения, выдвигаемые для публичной защиты. Результаты диссертационного исследования имеют большое значение для цитологии, клеточной биологии, фармакологии и онкологии.... По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов работа Савицкой М.А. полностью соответствует основным квалификационным критериям п.п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней №842)».

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, по теме диссертации – 16, опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 6 статей. Результаты диссертации были доложены на 5 национальных и 5 международных конференциях. Все результаты исследований получены лично соискателем, а его авторский вклад в публикациях является важнейшим и определяющим.

Публикации, наиболее значительные, отражающие содержание диссертации:

- 1) **Савицкая М.А.**, Вильданова М.С., Кисурина-Евгеньева О.П., Смирнова Е.А., Онищенко Г.Е. Митохондриальный путь апоптоза в клетках эпидермоидной карциномы человека A431 при действии α -токоферилсукцината. // Acta Naturae, 2012, том 4, № 3, с. 93-100;
- 2) **Савицкая М.А.**, Онищенко Г.Е. α -токоферилсукцинат влияет на жизнеспособность, пролиферацию и дифференцировку опухолевых клеток. Биохимия, 2016, том 81, № 8, с. 1036-1051.

На автореферат диссертации поступили отзывы:

- от Бродского В.Я., д.б.н., главного научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук;
- от Татарского В.В., к.б.н., научного сотрудника лаборатории механизмов гибели опухолевых клеток Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский Онкологический Научный Центр им. Н.Н.Блохина» Минздрава РФ, Москва;
- от Дугиной В.Б., д.б.н., ведущего научного сотрудника Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского МГУ;

Все отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

- от Чесноковой Е.А., к.б.н., научного сотрудника лаборатории клеточной нейробиологии обучения Учреждения Российской Академии Наук Института Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН;
- от Ломакиной М.Е, научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский Онкологический Научный Центр им. Н.Н.Блохина» Минздрава РФ, Москва.

Отзывы положительные, принципиальных замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются специалистами в области исследований межклеточных взаимодействий, цитоскелета и

клеточной подвижности и имеют публикации по исследованиям в данной области, а в Научно-исследовательском институте морфологии человека на высоком уровне проводятся исследования со сходным профилем в области клеточной биологии, цитологии и гистологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция, согласно которой α -токоферилсукцинат индуцирует апоптоз в клетках эпидермоидной карциномы человека по митохондриальному механизму, в то время как в нормальных кератиноцитах человека индукция апоптоза происходит по механизму, отличному от митохондриального, и требует применения более высоких концентраций.

предложена оригинальная научная гипотеза о том, что α -токоферилсукцинат обладает селективным действием по отношению к опухолевым клеткам эпидермального происхождения.

доказано, что в опухолевых клетках эпидермоидной карциномы СВЕ запускает апоптоз по митохондриальному механизму благодаря индукции образования активных форм кислорода, которая приводит к нарушению проницаемости митохондрий и выходу цитохрома *c* в цитозоль, а также ингибирует подвижность в обеих линиях клеток;

введён новый комплексный подход для исследования реакции как нормальных, так и опухолевых клеток по ряду параметров, таких как оценка уровня гибели, оценка состояния органелл на световом и ультраструктурном уровне, оценка подвижности клеток методом моделирования раны *in vitro*, что позволяет обнаружить и продемонстрировать множественность мишеней воздействия α -токоферилсукцината.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано положение о том, α -токоферилсукцинат селективно и дозозависимо действует на опухолевые клетки, происходящие из многослойного эпителия человека, вызывая в них гибель и изменения органелл, обладающие признаками стресса. Это вносит существенный вклад в понимание механизмов действия данного соединения и в разработку химиотерапевтических противоопухолевых препаратов, способных направленно действовать на трансформированные клетки.

Применительно к проблематике диссертации эффективно

использован широкий комплекс классических и современных экспериментальных подходов, который включает в себя культивирование эукариотических клеток, световую и флуоресцентную микроскопию, трансмиссионную и сканирующую электронную микроскопию, цито- и иммуноцитохимические исследования, прижизненные наблюдения за клетками моделирование экспериментальной раны *in vitro*; проведён статистический анализ ключевых результатов исследования;

изложены экспериментальные доказательства селективного влияния α -токоферилсукцината на уровень гибели клеток, на морфологию митохондрий, эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи и везикул кислого компартмента, а также на состояние актинового цитоскелета и подвижность нормальных и опухолевых клеток;

раскрыты существенные проявления теории: выявлено, что при действии α -токоферилсукцината в опухолевых клетках происходит окислительный стресс, приводящий к выходу цитохрома *c* из митохондрий и запуску программы апоптоза по митохондриальному пути;

изучены причинно-следственные связи между повышением уровня гибели клеток и нарушением структуры и функционирования митохондрий опухолевых клеток;

проведена модернизация существующих методов фиксации и иммуноцитохимического окрашивания эукариотических клеток, а также прижизненного наблюдения за клетками, что обеспечило получение новых и более точных результатов в рамках данной диссертации.

Значение полученных соискателем результатов исследования для подтверждается тем, что:

разработана методика сравнения состояния отдельных клеточных органелл на световом и ультраструктурном уровне после инкубации с α -токоферилсукцинатом, что позволяет сделать предположения в пользу механизмов действия данного агента;

определены перспективы практического использования полученных результатов в биологии при проведении фундаментальных исследований, а также в медицине – они могут быть применены при поиске новых мишеней для химиотерапии;

создана модель и система практических методов для исследования характера влияния производного витамина Е на нормальные и опухолевые клетки кожи человека;

представлены предложения по использованию полученных результатов для дальнейшего исследования роли α -токоферилсукцината как потенциального цитотоксического соединения, являющегося также активатором окислительного стресса в опухолевых клетках и ингибитором клеточной подвижности. Сопоставление реакции нормальных и опухолевых клеток на действие данного агента и демонстрация множественных мишеней воздействия вносит существенный вклад в разработку подходов к противоопухолевой терапии, связанных с индукцией апоптоза и подавлением подвижности опухолевых клеток.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

воспроизводимость результатов: работа выполнена на достаточном по объёму материале и на высоком технологическом уровне с применением современных методов исследований в области клеточной биологии; экспериментальные результаты получены на сертифицированном оборудовании, откалиброванном в соответствие со стандартами. Таким образом, полученные диссертантом результаты являются статистически достоверными;

теория построена на проверяемых данных автора и согласуется с известными опубликованными экспериментальными данными в соответствующей отрасли научного знания;

идея базируется на анализе экспериментальных работ зарубежных исследователей, изучающих механизмы действия α -токоферилсукцината на различные мишени;

использованы оригинальные данные автора об одном из видов программированной клеточной гибели, сопоставимые с данными, полученными ранее другими авторами по исследуемой тематике;

установлено качественное соответствие результатов работы с данными, представленными ранее, в которых изучалось воздействие α -токоферилсукцината на различные линии клеток как эпителиального, так и мезенхимального и нейрального происхождения;

использованы современные методы сбора и обработки исходной информации, микроскопы, цифровые камеры и компьютерные программы с лицензионным программным обеспечением.

Личный вклад соискателя состоит в его участии на всех этапах научного процесса: анализе научной литературы, относящейся к теме исследования, непосредственном участии соискателя в планировании и разработке научных экспериментов, получении первичных данных, их

обработке и интерпретации, личном участии в апробации результатов исследования, а также подготовке публикаций по теме выполненной работы.

На заседании 13 декабря 2016 года диссертационный совет принял решение присудить Савицкой Маргарите Анатольевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации - 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 16, против 1, недействительных бюллетеней 0.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным п.9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013г. № 842, а соискатель Савицкая Маргарита Анатольевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Председатель диссертационного совета

д.б.н., профессор



В.А.Голиченков

Ученый секретарь диссертационного совета

к.б.н.



Е.Н.Калистратова

Декан биологического факультета МГУ,

д.б.н., академик РАН



М.П.Кирпичников

Дата оформления Заключения 14 декабря 2016 года

