

**ОТЗЫВ официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук Титовой Екатерины Валерьевны  
на тему: «Действие митохондриально-направленных антиоксидантов на  
трансформированные фибробласты человека в культуре»  
по специальности 1.5.22 Клеточная биология**

**Актуальность темы исследования.**

Тема диссертационного исследования является актуальной и соответствует современным направлениям онкобиологии и клеточной биологии. Одним из ключевых направлений противоопухолевой терапии сегодня является поиск механизмов воздействия на метастатические клетки, поскольку именно они наименее чувствительны к традиционным методам лечения. Приобретённая ими резистентность значительно снижает вероятность полного излечения в большинстве случаев.

Подвижность опухолевых клеток, напрямую зависящая от реорганизации актинового цитоскелета, играет решающую роль в процессах инвазии и метастазирования, когда клетки покидают первичный очаг и распространяются по организму. Глубокое понимание механизмов, регулирующих клеточную подвижность, и разработка подходов к её целенаправленному контролю представляют собой одно из наиболее перспективных направлений создания новых терапевтических стратегий лечения злокачественных опухолей.

В исследовании в качестве инструмента воздействия используются антиоксиданты, способные накапливаться в митохондриях. Трансформированные клетки, как правило, отличаются смещением окислительно-восстановительного баланса, что приводит к развитию окислительного стресса. При этом активные формы кислорода (АФК) выступают не только как повреждающий фактор, но и как важные сигнальные молекулы: в одних условиях они подавляют опухолевый рост, а в других — напротив, способствуют пролиферации и выживанию клеток. Такой двойственный характер действия АФК делает особенно актуальным поиск способов целенаправленного регулирования клеточного окислительно-восстановительного баланса с помощью антиоксидантных средств. Поскольку основная часть внутриклеточных АФК образуется в дыхательной цепи митохондрий, именно этот органелла является главным источником и мишенью окислительных повреждений. Поэтому воздействие на митохондриальные формы АФК рассматривается как одно из наиболее перспективных направлений исследований.

Дополнительным преимуществом митохондриально-адресованных антиоксидантов является их высокая эффективность: они действуют в значительно меньших

концентрациях по сравнению с классическими антиоксидантами. Это позволяет снизить риск неблагоприятного влияния на нормальные клетки и, в перспективе, минимизировать возможные побочные эффекты при терапевтическом применении.

Таким образом, изучение антиоксидантов, способных избирательно накапливаться в опухолевых клетках, перенастраивать их окислительно-восстановительный баланс и при этом минимально воздействовать на здоровые клетки, остаётся сложной, но исключительно важной задачей современной молекулярной онкологии и биологии опухолевой клетки.

#### **Объем и содержание работы.**

Диссертация выполнена на высоком научном уровне и отличается логичной структурой, последовательным изложением и полнотой представленного материала. Работа включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, разделы с результатами и их обсуждением, выводы и список литературы. Объём диссертации (154 страницы) полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским исследованиям.

В исследовании рассматриваются как нормальные, так и SV40-трансформированные и опухолевые фибробласты человека, что позволяет провести детальный сравнительный анализ и выявить специфические особенности ответа трансформированных и нормальных клеток на воздействие митохондриально-направленных антиоксидантов.

Автор убедительно демонстрирует, что в трансформированных фибробластах митохондриально-адресованные антиоксиданты вызывают:

- фенотипическую нормализацию клеток;
- восстановление  $\beta$ -актиновых стресс-фибрилл и перераспределение  $\gamma$ -актиновой сети;
- усиление формирования зрелых фокальных контактов и повышение экспрессии винкулина;
- индукцию маркеров миофибробластной дифференцировки (в частности,  $\alpha$ -гладкомышечного актина);
- подавление пролиферации опухолевых клеток за счёт нарушения динамики клеточного цикла, задержки на стадии телофазы и снижения активности киназ семейства Aurora и фосфорилированной формы белка Rb.

#### **Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.**

Научные положения и выводы, представленные в диссертации, логично вытекают из полученных экспериментальных данных и подтверждены статистически достоверными



результатами. Основные итоги исследования отражены в пяти публикациях в международных и отечественных рецензируемых научных изданиях.

В работе проведён глубокий анализ 330 литературных источников, а также использован широкий спектр современных экспериментальных методов, включая иммунофлуоресцентную и конфокальную микроскопию, микроскопию сверхвысокого разрешения (SIM), вестерн-блот, проточную цитофлуориметрию, прижизненную видеомикроскопию, морфометрический анализ и статистическую обработку данных.

Контрольные эксперименты с ненаправленными антиоксидантами, а также с модифицированными аналогами SkQ (лишёнными антиоксидантной или адресующей компоненты) убедительно показывают, что наблюдаемые эффекты связаны именно с митохондриально-направленным антиоксидантным действием.

Экспериментальная часть выполнена тщательно, с соблюдением всех необходимых контролей и повторов, что подтверждает высокую достоверность и обоснованность научных выводов диссертанта.

#### **Новизна научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.**

В данном диссертационном исследовании впервые показано, что снижение уровня митохондриальных активных форм кислорода (МАФК) с помощью митохондриально-адресованных антиоксидантов (МАО) семейства SkQ приводит к фенотипической нормализации вирус-трансформированных фибробластов. Этот процесс сопровождается восстановлением  $\beta$ -актиновых пучков, перераспределением актин-связывающих белков и формированием зрелых фокальных контактов.

Впервые продемонстрирована способность МАО индуцировать миофибробластную дифференцировку трансформированных клеток, что проявляется появлением  $\alpha$ -гладкомышечного актина и немышечного миозина II в составе бета-актиновых структур (стресс-фибрилл). Кроме того, установлено, что цитостатический эффект МАО на опухолевые фибробласты связан с нарушением динамики клеточного цикла — в частности, с задержкой на стадии телофазы/цитокинеза, частично обусловленной снижением активности киназ Aurora A/B/C и фосфорилированной формы белка Rb.

Полученные результаты вносят существенный вклад в понимание взаимосвязи между окислительным статусом митохондрий, организацией актинового цитоскелета и регуляцией клеточного цикла при опухолевой трансформации.

#### **Вопросы и замечания.**

К работе имеются ряд дискуссионных вопросов и замечаний.

Для многих рисунков статистика подсчитана с помощью t-теста Стьюдента для сравнения множества групп. Правильнее было бы использовать тест ANOVA или его

непараметрические варианты с поправкой на множественные сравнения (например рисунки 50, 51, 53 и др.)

Работа выполнена на фибробластах и клетках с мезенхимальным фенотипом. Смотрели ли на эффекты на цитоскелет на клетках с эпителиальным фенотипом?

В работе отмечается, что клетки могут приобретать фенотип миофибробластов. Так как миофибробласты могут стимулировать опухолевые клетки и имеют ряд других про-опухолевых функций (ремоделирование матрикса, увеличение ангиогенеза итп) не может ли быть этот эффект про-канцерогенным?

В работе отмечается, что снижалось фосфорилирование Aurora киназ и фосфорилирование Rb. Какой предполагаемый механизм этого снижения? Может ли он быть вызван прямым ингибированием киназ для которых эти мишени являются субстратами (CDK4/6/2, самих Aurora киназ, PLK1 итп)?

На фоне продемонстрированного автором «созревания» фокальных контактов логичным продолжением исследования могла бы стать оценка миграционной и инвазивной активности клеток *in vitro*, например, с использованием камер Бойдена.

Данное замечание носит рекомендательный характер и никоим образом не снижает общего высокого уровня выполненной работы.

#### **Заключение.**

Диссертационная работа Екатерины Валерьевны Титовой на тему «Действие митохондриально-направленных антиоксидантов на трансформированные фибробласты человека в культуре» представляет собой самостоятельное, логически завершённое и методически качественное исследование. Оно вносит значимый вклад в понимание механизмов поддержания трансформированного фенотипа фибробластов, зависящего от митохондриальных активных форм кислорода (АФК), и демонстрирует взаимосвязь между митохондриальным окислительно-восстановительным балансом и регуляторами митоза и клеточной адгезии (киназы Aurora, pRb, актомиозиновая система, фокальные контакты). Полученные результаты обладают научной новизной и практической значимостью: они открывают перспективы для разработки комбинированных противоопухолевых подходов, основанных на перенастройке митохондриального окислительно-восстановительного баланса и целенаправленном воздействии на процессы цитокинеза и адгезии клеток.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация Титовой Екатерины Валерьевны на тему «Действие митохондриально-направленных антиоксидантов на трансформированные фибробласты человека в культуре» отвечает требованиям, установленным Московским государственным



университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.22 Клеточная биология (по биологическим наукам). Диссертация Титовой Е.В. отвечает критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Титова Екатерина Валерьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 Клеточная биология.

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,

Заведующий лабораторией онкобиологии

Федерального государственного

бюджетного учреждения науки

Институт биологии гена

Российской академии наук

Татарский Виктор Вячеславович

10.11.2025

Контактные данные:

тел.:

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация:

14.01.12 – «Онкология» (3.1.6. - «Онкология, лучевая терапия»

в действующей номенклатуре научных специальностей)

Адрес места работы:

119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

ФГБУН Институт биологии гена Российской академии наук

Тел.:

Подпись Татарского В.В. заверяю

Ученый секретарь Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки

Институт биологии гена

Российской академии наук

Доктор биологических наук

Набирочкина Елена Николаевна