

**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.**

Диссертационная работа Екатерины Валерьевны Титовой посвящена изучению воздействия митохондриально-направленных антиоксидантов на нормальные и неопластически трансформированные фибробласты человека. Актуальность выбранной темы очевидна: регуляция окислительно-восстановительного баланса и её связь с процессами опухолевой трансформации клеток остаются одними из ключевых вопросов современной биологии канцерогенеза. Особое внимание заслуживают исследования, направленные на выяснение механизмов, связанных с изменениями цитоскелета, подвижности и пролиферативной активности опухолевых клеток, поскольку проблема метастазирования по-прежнему остаётся одной из наиболее актуальных и нерешённых задач онкологии. В этом контексте работа Е.В. Титовой представляет собой значимый вклад в развитие фундаментальных знаний о роли митохондрий в поддержании трансформированного клеточного фенотипа. Не менее важна и прикладная ценность исследования: поиск веществ, способных эффективно использоваться в комбинированной противоопухолевой терапии и воздействовать на метастатические клетки, сегодня является одним из приоритетных направлений в области экспериментальной онкологии.

**Объем и содержание работы.**

Диссертация построена логично и последовательно, включает введение, обзор литературы, разделы, посвящённые материалам и методам исследования, полученным результатам и их обсуждению, выводы и библиографию. Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, содержит 64 рисунка и 330 источников цитирования, что в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским исследованиям.

Автором проведен глубокий сравнительный анализ действия митохондриально-направленных антиоксидантов семейства SkQ на нормальные, вирус-трансформированные и опухолевые фибробласты человека. Впервые показано, что снижение уровня митохондриальных активных форм кислорода приводит к фенотипической нормализации трансформированных фибробластов, сопровождающейся восстановлением  $\beta$ -актиновых стресс-фибрилл, перераспределением актин-связывающих белков, формированием зрелых

фокальных контактов и индукцией маркеров миофибробластной дифференцировки. Установлен цитостатический эффект митохондриально-направленных антиоксидантов на трансформированные фибробласты, который связан с нарушением динамики клеточного цикла, в частности — задержкой на стадии телофазы/цитокинеза и снижением активности киназ семейства Auroga и фосфорилированной формой белка pRb. При этом на нормальные диплоидные фибробласты митохондриально-направленные антиоксиданты семейства SkQ заметного токсического влияния не оказывали.

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

Работа выполнена на высоком научном уровне, отличается целостностью, логичностью построения и высоким качеством экспериментального исполнения. Ключевые результаты исследования представлены в пяти статьях, опубликованных в российских и международных рецензируемых научных журналах. В исследовании применён широкий спектр современных методических подходов: конфокальная и сверхразрешающая микроскопия, иммунофлуоресцентный анализ, вестерн-блоттинг, проточная цитофлуориметрия, прижизненная видеомикроскопия, морфометрический и статистический анализы. Проведённые эксперименты отличает высокая воспроизводимость и тщательная постановка контролей, что обеспечивает достоверность полученных данных и обоснованность сделанных выводов.

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

Полученные результаты обладают несомненной научной новизной и значимым практическим потенциалом. Они демонстрируют важную роль митохондриального окислительно-восстановительного статуса в регуляции организации актинового цитоскелета, клеточной адгезии и пролиферации при опухолевой трансформации. В рамках данной работы было впервые показано, что антиоксиданты группы SkQ способствуют фенотипической нормализации и снижению пролиферации вирус-трансформированных и опухолевых фибробластов.

Впервые продемонстрировано, что митохондриально-направленные антиоксиданты изменяют пространственно-структурную организацию актинового цитоскелета, а также распределение его изоформ. Отмечена нормализация клеточного фенотипа, сопровождающаяся реорганизацией  $\gamma$ -актиновой кортикальной сети и  $\beta$ -актиновых стресс-фибрилл. Впервые установлено, что изменения в организации актиновых структур под действием SkQ сопряжены с увеличением размеров фокальных контактов и формированием актиновых пучков, богатых  $\alpha$ -гладкомышечным актином и немышечным миозином II, что указывает на миофибробластную дифференцировку SV40-

трансформированных клеток. Параллельно происходило снижение активности клеточного края и стабилизация актиновых пучков, что свидетельствует о подавлении подвижности клеток.

Эти результаты позволяют заключить, что снижение активных форм кислорода с помощью малых доз митохондриально-направленных антиоксидантов инициирует последовательные этапы изменения трансформированных фибробластов в направлении миофибробластной дифференцировки, то есть нормализации клеточного фенотипа.

Кроме того, в работе впервые исследована роль SkQ в регуляции клеточного цикла SV40-трансформированных и опухолевых клеток. Показано подавление пролиферации фибробластов, сопровождаемое значительным удлинением митоза и задержкой на стадии телофазы-цитокинеза. Как минимум, частично эффекты обусловлены снижением активности киназ семейства Aurora и белка ретинобластомы pRb.

Таким образом, полученные результаты обладают несомненной научной новизной и вносят существенный вклад в исследования противоопухолевой активности веществ, способных модулировать уровень активных форм кислорода.

#### **Вопросы и замечания.**

В опухолевых клетках снижается вклад окислительно-восстановительного фосфорилирования в метаболизм АТФ. Как это отражается на эффективности мАО?

В работе описано появление многоядерных клеток в присутствии мАО. Каков механизм?

Автор описал переход трансформированных фибробластов в миофибробласты при использовании мАО. Почему нормализация трансформированного фенотипа не останавливается на фенотипе фибробластов, а стимулируется дифференцировка в миофибробласты?

В тексте работы присутствует небольшое число опечаток и стилистических неточностей.

Работу значительно украсила бы заключительная схема, суммирующая полученные результаты.

#### **Заключение.**

Работа производит впечатление продуманного и основательного научного исследования, отличающегося высоким уровнем теоретической подготовки автора, владением современными экспериментальными подходами и глубоким пониманием биологических процессов, лежащих в основе трансформации клеток. Диссертационная работа открывает перспективы для разработки комбинированных противоопухолевых стратегий, направленных на коррекцию митохондриального окислительно-

восстановительного баланса и модуляцию процессов цитокинеза, клеточной адгезии и подвижности.

Указанные выше 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), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора 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:

Доктор биологических наук, доцент,  
ведущий научный сотрудник  
лаборатории клеточной физиологии

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного  
научного центра Российской Федерации

Института медико-биологических проблем  
Российской академии наук

  
Андреева Елена Ромуальдовна

Контактные данные: тел.: +7(916)555-14-26, e-mail: andreeva\_@mail.ru

Специальности, по которым официальным оппонентом защищена диссертация:

03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»

03.03.01 – «Физиология»

Адрес места работы: 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 76 А, ФГБУН

Государственный научный центр Российской Федерации

Институт медико-биологических проблем РАН, лаборатория клеточной физиологии

Тел.: 8(499)195-63-01; e-mail: andreeva\_er@mail.ru

Подпись Андреевой Е.Р. удостоверяю  
Начальник отдела кадров ГНЦ РФ ИМБП РАН

  
Н.А. Галанина