

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Морозовой Ксении Игоревны на тему:

«Редокс-состояние дыхательной цепи митохондрий астроцитов и

нейронов в норме и при патологиях в условиях *in vivo*»

по специальности 1.5.2. Биофизика

Актуальность темы исследования. Один из важнейших вызовов для современной биологической науки связан с тем, что информация о процессах, происходящих в живых организмах, фиксируется в основном косвенным путем, а не прямым измерением параметров химических реакций внутри организма. В настоящее время такую информацию можно получить главным образом с использованием биофизических методов. Одним из них является метод комбинационного рассеяния. Диссертационная работа Морозовой Ксении Игоревны представляет собой исследование функционирования дыхательной цепи митохондрий в двух типах клеток мозга (нейроны и астроциты) в норме и при изменении физиологических состояний организма, а также при различных патологиях, таких как злокачественные образования и болезнь Альцгеймера. Дыхательная или электрон-транспортирующая цепь (ЭТЦ) представляет собой встроенную во внутреннюю мембрану митохондрий систему транспорта электронов от окислительно-восстановительных эквивалентов к кислороду. Энергия этого потока электронов тратится на создание градиента протонов на мембране, который, в свою очередь, служит источником энергии для синтеза АТФ, используемого в качестве основной энергетической валюты в живых организмах. Кроме того, митохондрии выполняют и различные регуляторные функции, в частности, они ответственны за индукцию апоптоза и секрецию активных форм кислорода, которые являются компонентами сигнальных каскадов клеток. Настоящая работа представляет собой исследование, которое в будущем

позволит применять неинвазивный метод комбинационного рассеяния для оценки редокс-состояния дыхательной цепи для оценки состояния пациента. В связи с этим **исследование, проведенное Морозовой К.И.**, цель которого сформулирована как «установление роли физиолого-биохимических факторов в регуляции редокс-состояния ЭТЦ в зависимости от пространственной организации в клетках в условиях *in vivo* в норме и при патологиях» **является, безусловно, актуальным, а полученные диссертантом данные имеют как фундаментальное, так и прикладное значение.**

Структура диссертационной работы. Диссертационная работа Морозовой Ксении Игоревны построена по классическому образцу и состоит из разделов, включающих «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», а также содержит разделы «Заключение», «Выводы» и «Список литературы», включающий 98 ссылок. Работа иллюстрирована 51 рисунком, а также содержит 3 таблицы. Текст диссертационной работы изложен на 126 страницах.

Во «**Введении**» диссертационной работы Морозовой Ксении Игоревны описана актуальность и разработанность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, положения, выносимые на защиту, научная новизна. Кроме того, автор описывает теоретическую и практическую значимость работы, приводит данные о методологии исследования, степени достоверности полученных данных и апробации результатов, а также сообщает о личном вкладе автора в исследование.

В «**Обзоре литературы**» диссертационной работы подробно описана структура и функция дыхательной цепи митохондрий с особым вниманием к структуре респирасом, их формированию в различных условиях и интенсивности транспорта электронов в зависимости от наличия этой структуры. Существенное влияние автор уделяет характеристике активных форм кислорода и местам их образования в цепи переноса электронов. Подробно описаны метаболические особенности нейронов и астроцитов, в частности, характеристики митохондрий нейронов и астроцитов в

зависимости от интенсивности использования клетками глюкозы или жирных кислот для получения энергии. Описана роль астроцитов в регуляции мозгового кровообращения, а также возрастные изменения катаболизма нервных клеток при старении и токсическая роль в развитии патологий головного мозга.

Затем подробно описаны методы комбинационного рассеяния (КР) и его модификации, а также их применение для исследования биологических образцов, включая оценку состояния молекул, соотношения белков и липидов в клетке, липидного состава мембран, редокс-состояния цитохромов В- и С-типов и их распределения в клетке, а также для медицинской диагностики.

В разделе **«Материалы и методы»** диссертант подробно описывает использованные в работе методы, набор которых впечатляет. Он включает гистологические, иммунологические, физиологические и собственно биофизические методы, каждый из которых подробно описан. Особенно впечатляют эксперименты, проведенные с имплантацией хронических краниальных окон и инъекцией вирусных частиц, в результате чего были зарегистрированы одновременно спектры флуоресценции и спектры КР в идентифицированных клетках головного мозга бодрствующих животных. Освоенный диссертантом набор самых современных методических подходов демонстрирует высокую квалификацию Ксении Игоревны как экспериментатора.

Раздел **«Результаты и обсуждение»** представляет наибольший интерес, поскольку в нем представлены основные достижения рецензируемой работы. Сначала автор описывает различия в спектрах КР астроцитов и нейронов, двух типов клеток мозга с различной функцией. В таблице 2 диссертант приводит данные о том, какие именно спектры КР регистрируются и о чем свидетельствуют их изменения. Измеренные параметры позволяют автору судить об изменениях метаболизма в этих типах клеток. Полученные данные показывают, что *in vivo* относительное количество восстановленных цитохромов в астроцитах и нейронах различается.

Далее проведена оценка влияния локомоции на редокс-состояние дыхательной цепи и продукцию перекиси водорода в митохондриях нейронов и астроцитов у подобных мышей. Кроме этого, в этих экспериментах была проведена оценка оксигенации крови в венулах и артериолах и определен диаметр сосудов в головном мозге подопытных животных. В этих экспериментах было установлено, что в мозге в состоянии покоя в митохондриях астроцитов содержание восстановленных цитохромов С- и В-типов почти в 2 раза выше, чем в митохондриях нейронов, что свидетельствует о большей загруженности электронами дыхательной цепи. При этом, в астроцитах, но не в нейронах наблюдается увеличение производства свободно-радикальных форм кислорода, что приводит к росту уровня перекиси водорода. Эти изменения не связаны с увеличением уровня оксигенации мозга мышей, вызванной движением животных.

В следующей серии экспериментов было проведено выдерживание животных на диете, обогащенной жирами, или осуществлялось введение глюкозы, что приводит к увеличению количества доноров электронов для дыхательной цепи. Повышенное содержание жиров в пище приводило к увеличению относительного количества липидов в астроцитах, но не в нейронах. При избытке доноров электронов автор наблюдал увеличение загруженности дыхательной цепи в митохондриях астроцитов, при этом в астроцитах происходило накопление восстановленного цитохрома С, что по мнению диссертанта свидетельствует о более медленном переносе электронов между комплексами III и IV в астроцитах по сравнению с нейронами. В серии экспериментов с локальной гипоксией, вызванной искусственным тромбозом, диссертант наблюдал увеличение относительного содержания восстановленных цитохромов С- и В-типов в митохондриях, но не в нейронах, где степень относительной восстановленности переносчиков дыхательной цепи не изменялась. Эти результаты свидетельствуют, что дыхательные цепи митохондрий в нейронах и астроцитах функционируют по-разному, что автор

объясняет различиями в организации электрон транспортной цепи и ее различными функциями в этих клетках мозга.

В последней части работы проводилось изучение трансгенных мышей линии 5xFAD, которые являются моделью болезни Альцгеймера, а также образцов глиом, полученных от пациентов и животных в результате хирургического вмешательства. На симптоматической стадии развития патологии у мышей наблюдалось значительное увеличение относительного количества восстановленных цитохромов В- и С-типов в митохондриях нейронов, что свидетельствует о загрузке дыхательной цепи электронами. Физиологическая нагрузка на этой стадии приводила также к уменьшению в астроцитах относительного содержания восстановленных цитохромов В-типов в митохондриях и нарушению регуляции просвета артериол. Помимо этого, диссертантом был проведен тщательный анализ глиом различного типа и выявлены изменения в состоянии дыхательной цепи (снижение относительного количества восстановленных цитохромов В- и С-типов) в предопухолевой области, где осуществляется активная инвазия раковых клеток.

Диссертационная работа Морозовой Ксении Игоревны представляет собой замечательное с точки зрения планирования и очень хорошо выполненное исследование, в котором описано большое количество результатов, полученных в результате проведения комплексных экспериментов. Все это свидетельствует о высокой квалификации диссертанта. Следует отметить, что результаты настоящей работы подробно опубликованы: Морозова Ксения Игоревна является соавтором 6 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базе ядра Российского индекса научного цитирования «eLibrary Science Index». Невзирая на высокую оценку этой работы, к автору есть некоторые вопросы и по тексту публикации есть замечания.

1. Автор объясняет расширение сосудов за счет синтеза NO митохондриями при помощи фермента сульфитоксидазы, который

локализован в межмембранном пространстве митохондрий астроцитов. Исходя из названия, этот фермент окисляет сульфиты. Насколько велика скорость работы этого фермента и не мешают ли эндогенные сульфиты обеспечивать достаточно эффективное производство NO, Почему нельзя объяснить увеличение производства NO активацией нейрональной NO-синтетазы?

2. Диссертант отмечает, что различия между цепями переноса электронов в митохондриях нейронов и астроцитов обусловлены тем, что в дыхательной цепи нейронов формируются достаточно прочные комплексы отдельных компонентов, так называемые респирасомы. Можно ли обнаружить существование таких комплексов не только методом КР-спектроскопии, но и другими методами, например, биохимическими, определяя константы связывания цитохрома с выделенными митохондриями?

3. В тексте диссертации есть некоторые фактические и мелкие грамматические ошибки. Например, при описании сукцинатоксидазы на странице 13 диссертант указывает, что в состав фермента входит флавинмононуклеотид (ФМН). Однако в составе этого фермента обнаруживается флавинадениндинуклеотид (ФАД), а это два родственных, но различных соединения.

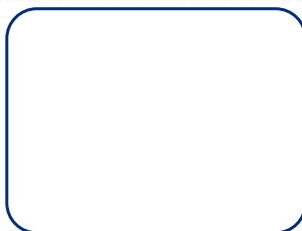
Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация безусловно отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.2. Биофизика (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 Морозова Ксения Игоревна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор
ведущий научный сотрудник кафедры биохимии
биологического факультета Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования «Московский
государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Лопина Ольга Дмитриевна



24 ноября 2025 года

Контактные данные:

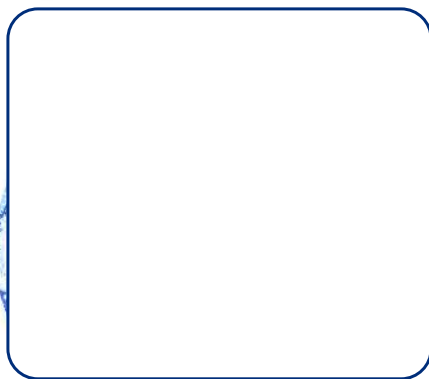
тел.: 7(495)939-44-34, e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:
03.01.04 – Биохимия

Адрес места работы:

119234, РФ г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова», биологический факультет, кафедра
биохимии

Тел.: +7(495)939-44-34; e-mail:



Морозова Елена Вячеславовна
25 ноября 2025 года