

ОТЗЫВ официального оппонента

доктора биологических наук, заместителя директора по науке Научно-исследовательского института экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России

Ширмановой Марины Вадимовны

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 (биологические науки)

Актуальность избранной темы

Тематика диссертационного исследования Морозовой К.И. связана с изучением редокс-состояния электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий астроцитов и нейронов в модельных системах в норме и при патологиях. В последние годы все большее внимание уделяется исследованиям биоэнергетики и редокс-баланса клеток головного мозга с целью идентификации новых терапевтических мишеней. Известно, что митохондрии играют критическую роль в клетках головного мозга. В нейронах они отвечают за энергетическое обеспечение, ионный баланс и синаптическую пластичность. Астроциты, обладая многочисленными митохондриями, в свою очередь, поддерживают жизнеспособность нейронов, в том числе через энергетическое обеспечение, утилизацию поврежденных митохондрий и метаболическую поддержку. Различия в клеточном метаболизме астроцитов и нейронов неизбежно находят отражение в структурной и пространственной организации комплексов митохондриальной дыхательной цепи. Развитие целого ряда заболеваний

центральной нервной системы, включая нейродегенеративные патологии (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона), злокачественные опухоли, а также процессы старения ассоциированы с дисфункциями митохондрий. К основным проявлениям митохондриальной дисфункции относят снижение синтеза АТФ, продукцию активных форм кислорода, активизацию механизмов программированной гибели клетки. В целом, митохондрии являются не только производителями энергии, но и регуляторами разнообразных клеточных процессов, а потому любые нарушения их состояния критичны для функционирования живых клеток. Между тем, процессы регуляции активности комплексов ЭТЦ, связь структурной организации ЭТЦ с различными процессами клеточного катаболизма, влияние различных воздействий на активность переноса электронов в ЭТЦ до конца не изучены. Значение дисфункции митохондрий в патогенезе нейродегенеративных и нейроонкологических процессов полностью не раскрыто. Стоит отметить, что основные результаты в этой области получены на крайне простых моделях - клеточных культурах и изолированных митохондриях. Несомненный интерес представляют исследования в условиях *in vivo*, поскольку состояние ЭТЦ митохондрий в значительной мере зависит от условий клеточного микроокружения и общего состояния клеток. Морозова К.И. ставит целью диссертации установление роли физиолого-биохимических факторов в регуляции редокс-состояния ЭТЦ в зависимости от пространственной организации в клетках в условиях *in vivo*. Всё вышеперечисленное указывает на безусловную актуальность научного исследования, проведенного Морозовой К.И.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту, научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность научных положений и выводов в диссертации Морозовой К.И. подтверждается использованием современной методологии, включающей планирование эксперимента, применение

высокотехнологичных методов и адекватных статистических процедур. Логичность и последовательность исследования, а также использование исчерпывающего объема экспериментальных данных обеспечивают надежность полученных результатов.

Сформулированные в диссертации выводы и положения на защиту находятся в полном соответствии с целью и задачами работы и основаны на оригинальных данных, собранных и проанализированных автором.

Достоверность и новизна положений, выносимых на защиту, научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Выполненное исследование содержит **новые**, полученные автором данные о механизмах регуляции редокс-состояния ЭТЦ с разной пространственной организацией комплексов в митохондриях астроцитов и нейронов в условиях *in vivo*. Автором разработаны оригинальные методики оценки редокс-состояния ЭТЦ митохондрий клеток головного мозга на основе микроспектроскопии комбинационного рассеяния с регистрацией сигнала от восстановленных цитохромов С-типов, В-типов, липидов, фенилаланина и белков. С помощью данного метода и применения целого ряда других современных технологий (например, двухфотонная флуоресцентная микроскопия, флуоресцентные генетически-кодируемые биосенсоры и маркеры) были выявлены и описаны **новые** особенности функционирования ЭТЦ, организованной в виде респирасомы в нейронах или состоящей из обособленных комплексов в астроцитах. **Впервые** надежно установлено, что пространственная организация ЭТЦ имеет принципиальное значение для регуляции транспорта электронов в норме и при патологиях. **Впервые** выявлены изменения редокс-состояния ЭТЦ при действии различных факторов – индукции гипоксии, физиологической стимуляции, болезни Альцгеймера, присутствии метастаза меланомы.

Достоверность научных положений и выводов не вызывает сомнений. Все полученные автором результаты воспроизводимы, использованные

методы работы и дизайн всего исследования описаны подробно и понятно. Достоверность результатов исследования, выводов и положений, выносимых на защиту, основывается на достаточном по объему репрезентативном материале, использовании современных методов исследования и статистической обработки данных. Достоверность подтверждается широким опубликованием результатов работы в высокорейтинговых, рецензируемых научных журналах. Результаты диссертационной работы представлены в 6 статьях в зарубежных (5) и российских (1) журналах, в том числе Nature communications. Результаты диссертации широко обсуждались на всероссийских и международных конференциях.

Научная и практическая значимость полученных результатов

Результаты диссертационного исследования Морозовой К.И. расширяют существующие представления о работе митохондриальной дыхательной цепи в клетках головного мозга. Полученные результаты подтверждают физиологическое значение различных форм организации комплексов ЭТЦ, устанавливают связь структуры ЭТЦ с генерацией активных форм кислорода и степень влияния различных физиологических и патологических факторов на редокс-состояние ЭТЦ в митохондриях астроцитов и нейронов (в частности, увеличение притока кислорода и глюкозы, повышенный приток жирных кислот, острая локальная гипоксия, возрастные изменения, болезнь Альцгеймера, опухолевые метастазы). Метод микроспектроскопии комбинационного рассеяния был реализован автором диссертации на различных объектах – срезах тканей мозга мышей и пациентов и мозге мышей *in vivo* с хроническими краниальными окнами. Диссертация Морозовой К.И. способствует раскрытию роли митохондрий в патогенезе нейродегенеративных и онкологических заболеваний. Исследование состояния ЭТЦ в условиях *in vivo* с идентификацией различных типов клеток придает результатам и выводам особенно высокую научную ценность.

Практическое значение работы связано, прежде всего, с выявлением нарушений в работе митохондрий астроцитов и нейронов, ассоциированных с процессами старения и нейродегенеративными заболеваниями (болезнь Альцгеймера), а также с развитием злокачественных новообразований. Идентификация особенностей редокс-состояния митохондрий при патологиях будет способствовать поиску новых терапевтических мишеней среди метаболических путей клетки. В целом работа Морозовой К.И. демонстрирует высокий потенциал спектроскопии комбинационного рассеяния в качестве метода медицинской диагностики в нейрохирургии и нейроонкологии.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Морозовой К.И. построена по традиционному плану и состоит из введения, литературного обзора (глава 1), описания материала и методов (глава 2), результатов и их обсуждения (глава 3), выводов и списка литературы. Работа хорошо иллюстрирована 51 рисунком и 3 таблицами. Список литературы включает 98 источников. Диссертация аккуратно и грамотно оформлена. Замечаний по представлению или изложению материала диссертации нет. Следует отметить детальное и качественное написание методического раздела, с подробным представлением всех протоколов исследования, описанием объектов и методик анализа данных. Все полученные результаты описаны в тексте соответствующего раздела и подкреплены рисунками и таблицами. Выводы диссертации логично следуют из представленных результатов, полностью основаны на собственных результатах, согласуются с поставленными задачами. Полученные результаты обладают важным научным и практическим значением. Содержание автореферата и опубликованных работ полностью соответствует основным положениям диссертации. Список этих

работ содержится в конце автореферата. В целом, диссертация Морозовой К.И. представляет собой целостное и комплексное междисциплинарное исследование и оставляет исключительно положительное впечатление. Обращает на себя внимание и вызывает восхищение высокий методический уровень выполненных экспериментов, особенно на моделях животных *in vivo*. Подробное их описание, подтверждение новых результатов классическими методами и разносторонний взгляд на изучаемую проблему убеждают в достоверности полученных данных и надежности выводов и положений. Работа отличается качественным оформлением, тщательной выверенностью и изложена ясным, научным языком.

Принципиальных замечаний к оппонируемой диссертационной работе у меня нет. Тем не менее, считаю необходимым озвучить некоторые уточняющие вопросы и комментарии.

1. Часть представленного в диссертации исследования выполнена на фиксированных срезах тканей мозга, а другая часть - на животных *in vivo*. Можно ли сравнивать результаты КР спектроскопии с фиксированных и живых объектов? Не приводит ли фиксация и хранение срезов в течение 1 месяца к изменениям в структуре КР спектров?
2. Автор диссертации делает заключения, что различия в редокс-состоянии комплексов ЭТЦ, регистрируемые с помощью КР-спектроскопии, связаны с разницей в их пространственной организации во внутренней мембране митохондрий. В литературном обзоре (раздел 1.1.3) даются отсылки только на работы *in vitro*, указывающие на различия структуры ЭТЦ в нейронах и астроцитах. В то же время, в самой диссертации эта различная пространственная организация ничем не подтверждена. Возможно ли в принципе каким-либо методом верифицировать пространственное расположение комплексов ЭТЦ в тканях?
3. Блок работ на тканях пациентов с глиомами представлен в диссертации (разделы 3.3.5 и 3.3.6), но отсутствует в автореферате. Между тем,

полученные на пациентском материале данные очень важны для понимания метаболических особенностей глиальных опухолей и окружающих их тканей.

4. В автореферате (с. 21) автор пишет, что «нарушение свойств и редокс-состояния митохондрий астроцитов может являться важной причиной развития опухолей головного мозга». Это утверждение автора мне кажется неточным и требует пояснения. Если речь идет о глиальных опухолях, то все-таки главная причина их патогенеза лежит в генетических перестройках. Если речь о развитии метастазов опухолей другого происхождения в мозге, то их причина кроется в биологических свойствах первичной опухоли и формировании благоприятного микроокружения в метастатической нише.
5. Некоторые диаграммы размаха (например, рис. 12, 13, 20А) даны в виде бокс-плотов с точками. Однако из подписей к рисункам не понятно, чему соответствуют точки. На других диаграммах (например, рис. 16, 19) точки не показаны, и опять же не понятно по скольким измерениям представлены эти данные.

Заключение

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация 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 **Морозовой Ксении Игоревны** заслуживает присуждения ученой степени **кандидата биологических наук** по специальности 1.5.2. Биофизика

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,

заместитель директора по науке

Научно-исследовательского института

экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий,

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский

университет» Минздрава России

Ширманова Марина Вадимовна

14.11.2025

Контактные данные:

тел.: [REDACTED], e-mail: shirmanova_m@pimunn.net

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация:

1.5.2. - Биофизика (биологические науки)

Адрес места работы:

603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д.10/1

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский

университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий

Тел.: 8(831)4655672; e-mail: shirmanova_m@pimunn.net

Подпись доктора биологических наук,

заместителя директора по науке

НИИ ЭО и БМТ ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России

М.В. Ширмановой заверяю:

Ученый секретарь университета,

кандидат биологических наук, доцент _____ Сорокина Ю.А.