

УТВЕРЖДАЮ:

Заместитель директора по научной
и образовательной деятельности
ФГБУ «НМИЦ им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России
д.м.н., профессор



Петровский А.В.

2025 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретируемых клетками злокачественных опухолей» выполнена в лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России).

В период подготовки диссертации соискатель Скрыбин Глеб Олегович работал лаборантом-исследователем и младшим научным сотрудником в лаборатории клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

В 2019 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» (магистратура биологического факультета по направлению 06.04.01 «Биология» по специальности «Вирусология»).

С 2019 года по 2022 год обучался в аспирантуре ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по специальности 31.06.01 Клиническая медицина. Диплом об окончании аспирантуры №107704 0394706 выдан «8» августа 2022 года.

Тема диссертационной работы на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия утверждена на заседании ученого совета НИИ канцерогенеза федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации «17» марта 2020 года, протокол № 3.

Экзамены кандидатского минимума сданы по дисциплинам: онкология «17» февраля 2021 г, иностранный язык (английский) «11» февраля 2022 г, история и философия науки (медицинские науки) «15» февраля 2022 г. Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 20/2025 выдана «15» августа 2025 года в ФГБУ «НМИЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

В настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Научный руководитель

Чевкина Елена Максимовна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Текст диссертации был проверен в Программной системе для поддержки экспертной деятельности по выявлению текстовых заимствований «Антиплагиат. Эксперт» версия 3.3» и не содержит заимствованного материала без ссылок на авторов.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Оценка выполненной соискателем работы

Диссертация Скрыбина Глеба Олеговича «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретируемых клетками злокачественных опухолей» представляет собой завершённое научно-квалификационное исследование, в котором комплексно изучены рафт-образующие белки (флотиллин-2, стоматин, кавеолин-1) в контексте биогенеза и секреции внеклеточных везикул и их влияния на злокачественный фенотип клеток НМРЛ. Получены приоритетные результаты о регуляторных взаимосвязях этих белков и их участии в контроле продукции ВВ; особо подчеркнута роль стоматина: показана его универсальная представленность в ВВ, обогащение в малых везикулах (экзосомах) и соответствие критериям высокоспецифичного экзосомального маркера.

Исследование имеет существенное фундаментальное значение для понимания рафт-зависимых механизмов секреции ВВ и их связи с опухолевой прогрессией, а также прикладное значение: предложены методические рекомендации по выделению и квантификации ВВ из различных биологических жидкостей, создана коллекция генно-модифицированных клеточных моделей для дальнейших исследований, обоснована перспективность везикулярных маркеров (прежде всего стоматина и флотиллина) для задач жидкостной биопсии и намечены направления разработки новых таргетных и везикул-ориентированных терапевтических подходов.

Тема диссертации непосредственно связана с планом научно-исследовательских работ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Автор самостоятельно провел тщательный анализ научной литературы, изучил степень разработанности проблемы, на основании чего были сформулированы цель и задачи исследования. Соискателем самостоятельно проведены все экспериментальные исследования, обработка результатов и статистический анализ данных. Анализ полученных результатов, их интерпретация и сопоставление с ранее опубликованными результатами по данной тематике также проведены лично Г.О. Скрябиным. Соискателем подготовлены результаты к публикации, Скрябин Г.О. является первым автором большинства опубликованных работ, что подтверждает основной вклад соискателя в полученные результаты.

Степень обоснованности научных положений и выводов

Работа выполнена на большом материале. Использованные в работе методические подходы и экспериментальные модели адекватны поставленным задачам. Все результаты выполнены в нескольких биологических повторах с использованием всех необходимых контролей. Выводы логически вытекают из полученных результатов и полностью обоснованы. Представленный объем и качество экспериментальных данных являются достаточными для решения поставленных задач, высокий методический уровень и качество представленных иллюстраций обеспечивают достоверность результатов исследования. Выводы соответствуют поставленным задачам. Достоверность представленных данных подтверждается актом проверки первичной документации от «9» января 2024 года.

Степень научной новизны

В диссертационной работе получен ряд принципиально новых результатов, существенно расширяющих представления о механизмах рафт-зависимого биогенеза и секреции внеклеточных везикул. Впервые проведён сравнительный анализ основных рафт-образующих белков – флотиллина-2, кавеолина-1 и стоматина – в составе ВВ различного происхождения, включая биологические жидкости пациентов с онкопатологией и здоровых доноров (в т.ч. впервые – из желудочного сока и маточных аспириатов), а также в везикулах, секретируемых клеточными линиями опухолевых и нормальных клеток *in vitro*.

Впервые показано присутствие стоматина во всех исследуемых типах ВВ и обоснована его роль как нового высокоспецифичного экзосомального маркера. Установлены взаиморегуляторные связи между флотиллином-2, стоматином и кавеолином-1, определяющие уровни экспрессии этих белков в клетках и их представленность во внеклеточных везикулах. Показано, что подавление экспрессии любого из указанных белков стимулирует секрецию везикул, а нокдаун стоматина также приводит к увеличению доли крупных везикул. Впервые продемонстрировано, что все три белка способствуют поддержанию злокачественного фенотипа клеток НМРЛ. Кроме того, впервые охарактеризованы внеклеточные везикулы,

выделенные из желудочного сока и маточных аспиратов, выявлена их высокая морфологическая гетерогенность и атипичные формы, ранее не описанные для данных биологических жидкостей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в исследовании результаты имеют существенное теоретическое значение, расширяя представления о механизмах рафт-зависимого биогенеза и секреции внеклеточных везикул, а также о роли рафт-образующих белков – флотиллина-2, стоматина и кавеолина-1 – в регуляции внутриклеточных процессов и формировании злокачественного фенотипа опухолевых клеток. Впервые показанные взаимосвязи между данными белками и их участие в контроле продукции и состава внеклеточных везикул вносят вклад в понимание молекулярных основ межклеточной коммуникации при канцерогенезе.

Практическая значимость работы заключается в разработке методических подходов к выделению и количественной оценке внеклеточных везикул из различных биологических жидкостей, включая желудочный сок и маточные аспираты, а также в обосновании стоматина как нового высокоспецифичного экзосомального маркера. Полученные данные создают предпосылки для разработки диагностических тестов для жидкостной биопсии, основанных на анализе везикулярных белков, и открывают перспективу использования флотиллина, стоматина и кавеолина-1 как мишеней для направленной регуляции продукции внеклеточных везикул и разработки инновационных противоопухолевых терапевтических подходов.

Ценность научных работ соискателя ученой степени

Результаты работы и положения, сформулированные в диссертации, отражены в публикациях автора в ведущих российских и международных журналах, включая издания, включенные в системы цитирования Scopus и WOS (в том числе 1-го и 2-го квартиля). Опубликованные данные являются приоритетными, результаты вносят существенный вклад в понимание процессов лежащих в основе функционирования мембранных микродоменов, секреции ВВ и их роли в опухолевой прогрессии.

Научная специальность, которой соответствует диссертация

Научные положения диссертационной работы Скрябина Глеба Олеговича соответствует паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направлению исследований п.2 «Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)».

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах.

Скрябин Глеб Олегович – автор 22 публикаций. Материалы диссертационных исследований изложены в 18 научных статьях, из них 10 статей опубликованы в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Основные работы:

1. Skryabin, G.O. Stomatin is highly expressed in exosomes of different origin and is a promising candidate as an exosomal marker / G.O. Skryabin, A.V. Komelkov, S.A. Galetsky, D.V. Bagrov, E.G. Evtushenko, I.I. Nikishin, K. I. Zhordaniia, E.E. Savelyeva, M.E. Akselrod, I.G. Paianidi, E.M. Tchekina // *Journal of Cellular Biochemistry*. — 2021. — Vol. 122, no. 1. — P. jcb.29834.

2. Skryabin, G.O. Isolation and characterization of extracellular vesicles from gastric juice / G.O. Skryabin, S.V. Vinokurova, S.A. Galetsky, D.S. Elkin, A.M. Senkovenko, D.A. Denisova, A.V. Komelkov, I.S. Stilidi, I.N. Peregorodiev, O.A. Malikhova, O.T. Imaraliev, A.D. Enikeev, E.M. Tchekina // *Cancers*. — 2022. — Vol. 14, no. 14. — P. 3314.

3. Skryabin, G.O. Lipid rafts in exosome biogenesis / G.O. Skryabin, A.V. Komelkov, E.E. Savelyeva, E.M. Tchekina // *Biochemistry (Moscow)*. — 2020. — Vol. 85, no. 2. — P. 177–191.

4. Skryabin, G.O. Distinctive features of extracellular vesicles present in the gastric juice of patients with gastric cancer and healthy subjects / G. Skryabin, A. Enikeev, A. Beliaeva, S. Galetsky, D. Bagrov, A. Moiseenko, A. Vnukova, O. Imaraliev, I. Karasev, E. Tchekina // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2025. — Vol. 26, no. 12. — P. 5857.

5. Skryabin, G.O. Analysis of miRNAs mir-125a-5p, -27a-5p, -193a-5p, -135b-5p, -451a, -495-3p and -136-5p in parental ovarian cancer cells and secreted extracellular vesicles / G.O. Skryabin, A.A. Beliaeva, A.D. Enikeev, D.V. Bagrov, A.M. Keremet, A.V. Komelkov, D.S. Elkin, D.M. Sylantieva, E.M. Tchekina // *Успехи молекулярной онкологии*. — 2024. — Vol. 11, no. 1. — P. 113–123.

6. Скрябин, Г.О. Сравнение методов выделения микроРНК из экстраклеточных везикул, присутствующих в асцитической жидкости / Г.О. Скрябин, С.В. Винокурова, Н.В. Елкина, Д.А. Денисова, А.А. Беляева, К.И. Жордания, Д.В. Багров, А.Д. Еникеев, С.А. Галецкий, А.В. Комельков, Г.И. Краснощекова, Е.М. Чевкина // *Биохимия*. — 2022. — Т. 87, № 11. — С. 1667–1682.

7. Skryabin, G.O. Extracellular vesicles from uterine aspirates represent a promising source for screening markers of gynecologic cancers / G.O. Skryabin, A.V. Komelkov, K.I. Zhordania, D.V. Bagrov, S.V. Vinokurova, S.A. Galetsky, N.V. Elkina, D.A. Denisova, A.D. Enikeev, E.M. Tchekina // *Cells*. — 2022. — Vol. 11, no. 7. — P. 1064.

8. Senkovenko, A. Characterization of extracellular vesicles by sulfophosphanillin colorimetric assay and raman spectroscopy / A. Senkovenko, G. Skryabin, E. Parshina, A. Piryazev, E. Tchekina, D. Bagrov // *Frontiers in Bioscience-Landmark*. — 2024. — Vol. 29, no. 10. — P. 366.

9. Bagrov, D.V. AFM-TEM correlation microscopy and its application to lipid nanoparticles / D.V. Bagrov, V.V. Adlerberg, G.O. Skryabin, I.I. Nikishin, S.A. Galetsky, E.M. Tchevkina, M.P. Kirpichnikov, K.V. Shaitan // *Microscopy Research and Technique*. — 2023. — Vol. 86, no. 7. — P. 781–790.

10. Nikishin, I. ScanEV – a neural network-based tool for the automated detection of extracellular vesicles in tem images / I. Nikishin, R. Dulimov, G. Skryabin, S. Galetsky, E. Tchevkina, D. Bagrov // *Micron*. — 2021. — Vol. 145. — P. 103044.

Представленная диссертационная работа отвечает задачам, поставленным при планировании диссертации.

Постановление конференции

Диссертационная работа Скрябина Глеба Олеговича «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретируемых клетками злокачественных опухолей» является самостоятельным законченным научно-квалификационным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение научной задачи, направленной на установление роли рафт-образующих белков – флотиллина-2, стоматина и кавеолина-1 – в злокачественных свойствах клеток НМРЛ и биогенезе внеклеточных везикул, а также на разработку методологических основ их изучения. В работе сформулированы научные и практические положения, совокупность которых может быть квалифицирована как научное достижение в клинической онкологии, имеющее важное значение для медицины.

Диссертация Скрябина Г.О. посвящена актуальной теме, имеет важное научно-практическое значение и отвечает всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и после внесения в текст необходимых исправлений и дополнений, может быть рекомендована к официальной защите в специализированном диссертационном совете на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Скрябина Глеба Олеговича «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретируемых клетками злокачественных опухолей» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Заключение принято на совместной научной конференции лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов, отдела экспериментальной биологии опухолей, лаборатории

механизмов канцерогенеза, лаборатории цитогенетики, лаборатории молекулярной биологии вирусов и лаборатории онкопротеомики НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, состоявшейся 30 сентября 2025 года.

Присутствовало на заседании 30 человек, в том числе, имеющих ученую степень 19 человек. Результаты голосования: в голосовании принимали участие 19 человек, имеющих ученую степень, из них: "за" - 19 человек, "против" - 0 человек, "воздержалось" - 0 человек. Протокол от «30» сентября 2025 г.

Председатель конференции:

заведующий лабораторией цитогенетики
НИИ канцерогенеза ФГБУ
«НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
кандидат биологических наук,

 **Копнин Павел Борисович**

Подпись кандидата биологических наук Копнина Павла Борисовича заверяю.

Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
кандидат медицинских наук



Кубасова Ирина Юрьевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Министерство здравоохранения Российской Федерации
115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24
E-mail: kanc1@ronc.ru
Официальный сайт: www.ronc.ru

Информация о лице, утвердившем Заключение организации, где выполнялась диссертация

Петровский Александр Валерьевич
доктор медицинских наук, профессор
Заместитель директора по научной
и образовательной деятельности ФГБУ
«НМИЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России



Петровский Александр Валерьевич