

Отзыв

**доктора медицинских наук Юнусовой Натальи Валерьевны на автореферат диссертации Скрябина Глеба Олеговича на тему: «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретируемых клетками злокачественных опухолей», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
3.1.6. Онкология, лучевая терапия**

Диссертация Скрябина Г.О. посвящена исследованию белкового состава внеклеточных везикул (ВВ), секретируемых клетками злокачественных опухолей, с основным фокусом на белках липидных рафтов. Липидные рафты (ЛР) на мембранах клетки предположительно являются платформами для формирования ВВ, прежде всего экзосом, однако до сих пор непосредственное участие рафт-образующих белков, прежде всего белков SPFH, флотиллинов-1,-2 и стоматина, а также кавеолинов, в биогенезе экзосом практически не изучалось. Также на сегодняшний день имеется недостаточное понимание роли этих белков в опухолевой прогрессии, а имеющиеся в литературе данные в отношении отдельных из перечисленных белков достаточно противоречивы. Учитывая важнейшую роль ВВ в патогенезе злокачественных новообразований, а также активное развитие в мире новых технологий, диагностических и терапевтических стратегий, основанных на использовании этих структур, данное направление исследований характеризуется высокой актуальностью, новизной и значимостью для фундаментальной медицины и экспериментальной онкологии.

В диссертации Скрябина Г.О. проведен сравнительный анализ белков ЛР и белков, используемых в качестве экзосомальных маркеров, в составе ВВ, выделенных из различных биологических жидкостей онкологических больных - крови, асцитической жидкости, желудочного сока и аспирационного материала из маточной полости, а также из кондиционированной среды линий малигнизированных клеток различного происхождения. Следует отметить высокий методический уровень и профессиональный подход автора к работе с ВВ – все препараты прошли комплексную валидацию в соответствии со стандартами и критериями ISEV (2018, 2023) (международное сообщество по исследованию ВВ), включая оценку размера и концентрации частиц методом анализа траекторий движения наночастиц, анализ морфологии ВВ с помощью трансмиссионной и крио-электронной микроскопии.

Также важно отметить, что ВВ из отдельных биологических источников (желудочный сок и маточные аспираты) охарактеризованы автором впервые в мире.

Наиболее значимыми результатами для фундаментальной биологии и медицины представляет обнаружение морфологической гетерогенности и новых морфотипов ВВ, а также выявление новых механизмов, регулирующих продукцию рафт-образующих белков. К наиболее важным в контексте экспериментальной онкологии результатам можно отнести обнаруженное автором участие исследуемых белков в регуляции пролиферации клеток немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), а также в регуляции секреции ими ВВ. Важно отметить, что эти данные получены с использованием разных экспериментальных моделей, что усиливает значимость и убедительность результатов. Особый интерес представляют результаты анализа флотиллина, белка, активно используемого в качестве экзосомального маркера. Полученные в работе данные свидетельствуют о вариабельности экспрессии данного белка в ВВ различного происхождения и низкой представленности флотиллинов в ВВ здоровых доноров. Этот факт ставит под сомнение эффективность использования флотиллина в качестве универсального маркера ВВ, однако открывает перспективы исследования данного белка в качестве везикулярного маркера злокачественных новообразований.

Впечатляет объем и высокий методический уровень исследования. В частности, для исследования роли рафт-образующих белков в продукции ВВ и регуляции пролиферативной активности клеток, автором получено более десяти производных сублиний клеток с модифицированной экспрессией соответствующих генов, проанализированы характеристики роста и состав белков ЛР самих клеток, а также уровень продукции ВВ данными клетками и их белковый состав.

Автореферат изложен последовательно и четко, содержит краткое, но достаточно понятное описание использованных методических подходов. Результаты изложены понятно, подтверждены иллюстрациями первичных данных, соответствуют сформулированным выводам.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет. Имеется уточняющий вопрос. Поскольку на протяжении последних 5-7 лет рекомендации MISEV претерпели определенные изменения, уточните пожалуйста терминологию, которую Вы использовали в своей работе, и, в частности, внеклеточные везикулы, малые ВВ, экзосомы и микровезикулы?

Заключение. Диссертационное исследование Скрябина Глеба Олеговича на тему «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретлируемых клетками злокачественных опухолей» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научно-методическом уровне. Работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой

степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Скрябин Глеб Олегович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Даю согласие на включение моих персональных данных, связанных с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Главный научный сотрудник лаборатории
биохимии опухолей НИИ онкологии Томского НИМЦ,
доктор медицинских наук, специальность 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Юнусова Н.В.

Подпись д.б.н. Юнусовой Н.В. «заверяю»

Ученый секретарь
НИИ онкологии Томского НИМЦ,
к.м.н.

02.04.2026



Савина Е.В.

Контактная информация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» - филиал Научно-исследовательский институт онкологии. 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5; Тел. 8 (3822) 51-33-06, bochkarevanv@oncology.tomsk.ru

ОТЗЫВ

НА АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ СКРЯБИНА ГЛЕБА ОЛЕГОВИЧА НА ТЕМУ:
«СОСТАВ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ БЕЛКОВ ЛИПИДНЫХ РАФТОВ В
ЭКЗОСОМАХ И МИКРОВЕЗИКУЛАХ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ КЛЕТКАМИ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ», ПРЕДСТАВЛЕННОЙ НА СОИСКАНИЕ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ 3.1.6. ОНКОЛОГИЯ, ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ

В настоящее время не вызывает сомнений важнейшая роль секреторируемых внеклеточных везикул (ВВ), прежде всего экзосом и микровезикул, как в поддержании нормальных физиологических процессов, так и в развитии системных заболеваний, включая злокачественные новообразования. Межклеточная и межтканевая коммуникация посредством ВВ осуществляется злокачественными клетками на всех этапах опухолевой прогрессии, обеспечивая рост и диссеминацию по организму. Стабильность и концентрированность биологически активных молекул в составе ВВ, циркулирующих в биологических жидкостях, участие ВВ в ремоделировании тканевого микроокружения, их способность к направленному взаимодействию с клетками-мишенями и преодолению межтканевых барьеров, а также целый ряд других свойств делают ВВ перспективным инструментом для разработки новых диагностических подходов и терапевтических стратегий в экспериментальной и клинической онкологии. Однако несмотря на стремительное развитие данного научного направления, до сих пор открытыми остаются важнейшие вопросы, касающиеся классификации ВВ и понимания ключевых аспектов биологии, включая механизмы их внутриклеточного формирования.

Диссертационная работа Скрябина Г.О. посвящена белкам липидных рафтов (ЛР), исследованию их роли в продукции ВВ клетками злокачественных опухолей и участию в поддержании малигнизированного фенотипа клеток.

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне, свидетельствующем о профессионализме автора. Важно отметить комплексный всесторонний подход к валидации препаратов ВВ в соответствии с международными стандартами. В связи с тем, что в настоящее время многие методические аспекты

работы с ВВ в мире до сих пор недостаточно стандартизованы, большое научно-практическое значение имеет ряд сформулированных в работе методических выводов и рекомендаций, включая рекомендации по методам количественной оценки везикул в различных биологических жидкостях, идентификацию нового высоко специфичного маркера малых ВВ для валидации везикулярной природы частиц (стоматина) и др.

Важное фундаментальное значение имеет впервые обнаруженная автором взаиморегуляция экспрессии и функциональная взаимосвязь белков липидных рафтов флотиллинов, стоматина и кавеолина. В практическом отношении большое значение имеют полученные данные об участии исследуемых белков в малигнизации клеток и в регуляции секреции ВВ.

Достоверность результатов исследования не вызывает сомнений и подтверждается наличием необходимых контролей, грамотным использованием статистических методов анализа, многочисленными независимыми повторами экспериментов. В автореферате представлены рисунки, иллюстрирующие первичные данные и подтверждающие выводы исследования.

По результатам работы сформулировано 7 выводов, которые полностью отражают полученные в диссертационном исследовании данные.

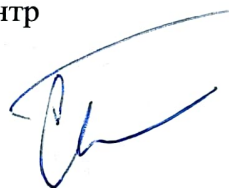
Диссертационная работа Скрябина Г.О. выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровнях, результаты опубликованы в 15 работах, из них – 11 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК, что указывает на высокую практическую значимость работы.

Принципиальных замечаний к автореферату нет. Имеются некоторые опечатки и стилистические погрешности.

По своей актуальности, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертационное исследование Скрябина Глеба Олеговича на тему «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретлируемых клетками злокачественных опухолей» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном уровне. Работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II

Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Скрыбин Глеб Олегович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

директор Института экспериментальной биологии и медицины
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр
имени академика Е.Н. Мешалкина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
кандидат биологических наук, доцент
Тамкович Светлана Николаевна
tamkovich_sn@meshalkin.ru



Согласна на включение моих персональных данных, связанных с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку

Подпись к.б.н., доцента Тамкович С.Н. «заверяю»
заместитель генерального директора по научной работе
чл.-корр. РАН, д.м.н. А.Б. Романов



Контактная информация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации
630055, город Новосибирск,
улица Речкуновская, дом 15,
Электронный адрес: www.meshalkin.ru
Электронная почта: mail@meshalkin.ru
Телефон: +7 (383) 347-60-58

Отзыв

на автореферат диссертации Скрябина Глеба Олеговича на тему:

«Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретируемых клетками злокачественных опухолей»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Диссертация Скрябина Г.О. посвящена актуальной проблеме экспериментальной онкологии и фундаментальной медицины – установлению механизмов биогенеза и секреции экстраклеточных везикул (ЭКВ) клетками злокачественных новообразований. Основные объекты исследования - белки липидных микродоменов (рафт-образующие белки, РОБ) – важные компоненты мембран, поддерживающих ее структурно-функциональную организацию. Автором проанализирован состав РОБ в экстраклеточных везикулах, присутствующих в биологических жидкостях организма, исследованы механизмы их регуляции и роль РОБ в продукции везикул опухолевыми клетками.

Автором получен ряд принципиально новых оригинальных данных. Впервые охарактеризованы в соответствии с международными стандартами ЭКВ желудочного сока и отделяемого полости матки. Впервые проведен комплексный анализ размеров, морфологии и концентраций везикул указанного происхождения. Автором обнаружены и описаны везикулы атипичной структуры, определены и охарактеризованы отдельные устойчивые морфотипы. Новым важным результатом, имеющим фундаментальное значение, можно считать впервые показанную автором регуляторную связь между экспрессией РОБ, свидетельствующую о наличии конкурентных/компенсаторных механизмов между данными белками в биогенезе ЭКВ.

Необходимо отметить высокий уровень доказательности результатов диссертационной работы. В частности, для выявления регуляторных механизмов автором применен комплексный подход к направленной модификации экспрессии,

включающий нокдаун (подавление эндогенной экспрессии) и гиперэкспрессию исследуемых генов, причем для подтверждения универсального характера выявленных закономерностей эксперименты выполнены с использованием нескольких экспериментальных моделей, представленных линиями трансформированных клеток различного тканевого происхождения.

Отдельно рассмотрен вопрос об эффективности экзосомальных маркеров из числа РОБ, применяемых в мировой научной практике для подтверждения везикулярной природы частиц в препаратах. При этом автором сделан ряд практических выводов. Особенно ценна идентификация нового селективного маркера малых ЭКВ – РОБ стоматина. Полученные данные имеют важное научно-методическое значение для исследований в области ЭКВ.

Оригинальность и научная значимость результатов диссертации, а также личный вклад Г.О.Скрябина в работу подтверждаются многочисленными публикациями в высокорейтинговых научных изданиях, где соискатель является первым автором.

Автореферат четко структурирован, отражает методические подходы и основные результаты исследования, подтверждающие сформулированные выводы и рекомендации.

Принципиальных замечаний к автореферату нет.

Заключение

По актуальности темы исследования, новизне полученных данных, научной-методической и практической значимости результатов диссертационное исследование Скрябина Глеба Олеговича на тему «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретлируемых клетками злокачественных опухолей» является законченной научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский

университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Скрябин Глеб Олегович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Штиль Александр Альбертович

доктор медицинских наук, специальность 14.01.12 Онкология
старший научный сотрудник кафедры медицинской химии и тонкого
органического синтеза
Химический факультет Московского государственного университета
имени М.В.Ломоносова

Согласен на включение моих персональных данных, связанных с работой
диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова», 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1/3, телефон: +7495 939-
10-00. Электронная почта: info@rector.msu.ru



ОТЗЫВ

НА АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ СКРЯБИНА ГЛЕБА ОЛЕГОВИЧА НА ТЕМУ: «СОСТАВ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ БЕЛКОВ ЛИПИДНЫХ РАФТОВ В ЭКЗОСОМАХ И МИКРОВЕЗИКУЛАХ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ КЛЕТКАМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ», ПРЕДСТАВЛЕННОЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ 3.1.6. ОНКОЛОГИЯ, ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ

Липидные микродомены или липидные рафты (ЛР) представляют собой высокоорганизованные структуры на плазматической мембране (ПМ), характеризующиеся повышенной плотностью и измененным составом липидов. Эти домены являются платформами для сборки «сигналом», определяя точное взаиморасположение сигнальных молекул и проведение внутриклеточных сигналов, а также ключевыми структурами эндоцитоза и других процессов на ПМ. Белки планарных ЛР, среди которых представители семейства SPFH (флотиллины, стоматин), а также белки кавеоларных рафтов (кавеолины, кавины) являются важнейшими компонентами этих микродоменов, определяя и поддерживая их структурно-функциональную организацию. Многочисленные данные свидетельствуют об участии рафт-образующих белков (РОБ), в частности кавеолина-1, в канцерогенезе, однако значение кавеолина-1 в малигнизации клеток по-прежнему недостаточно изучено, а имеющиеся результаты достаточно противоречивы, указывая на возможную двойственную роль в патогенезе злокачественных новообразований.

Существенно меньше изучены в этом контексте флотиллины, а в отношении стоматина имеются лишь единичные данные. В последние годы огромное внимание в контексте опухолевой прогрессии уделяется внеклеточным везикулам (ВВ), осуществляющим межклеточный перенос биоактивных молекул. Предполагается, что РОБ могут принимать участие в формировании ВВ, прежде всего экзосом, опухолевыми клетками, а также в их акцептировании клетками микроокружения. Отдельные РОБ, такие как флотиллины и кавеолин-1, широко представлены в ВВ и даже используются в качестве их молекулярных маркеров. Вместе с тем функциональное значение и даже присутствие в ВВ других РОБ (стоматин) - ранее не исследовалось.

Диссертация Скрябина Г.О. посвящена исследованию РОБ, кавеолина-1, флотиллинов-1 и -2 и стоматина, в ВВ опухолевого происхождения, присутствующих в различных биологических источниках, анализу влияния РОБ на малигнизированный фенотип клеток и продукцию ими ВВ. В связи со сказанным выше актуальность и значимость темы исследования представляется высокой как в отношении фундаментальной биологии, так и экспериментальной онкологии и медицины.

Диссертационное исследование проведено на высоком методическом уровне, автором получены и охарактеризованы ВВ из различных источников, включая секретом опухолевых клеток и биологические жидкости. Важно отметить, что ВВ из желудочного сока и маточной полости охарактеризованы автором впервые в мире, что подтверждается публикациями. Для исследования роли РОБ в злокачественном фенотипе клеток немелкоклеточного рака легких автором использованы методы направленной модификации экспрессии генов, кодирующих кавеолин-1, флотиллин-2 и стоматин, включая их гиперэкспрессию и нокдаун, причем исследование каждого из генов проведено с использованием двух экспериментальных моделей.

В работе получен ряд оригинальных данных, имеющих важное фундаментальное значение. В частности, показано, что присутствие флотиллинов в ВВ в большей степени характерно для везикул, имеющих опухолевое происхождение, что ставит под сомнение адекватность его использования в качестве универсального экзосомального маркера. Также автором показано влияние флотиллина-2 на продукцию ВВ опухолевыми клетками. Интересным представляется обнаружение преимущественной загрузки флотиллина-2 в ВВ при его дефиците в клетке в результате нокдауна. В сочетании с обнаруженным влиянием данного белка на пролиферацию и миграцию опухолевых клеток, эти результаты указывают на важное значение везикулярного флотиллина в регуляции злокачественного потенциала опухоли и взаимодействии опухолевых клеток с микроокружением. Еще одной важнейшей находкой данной работы стало обнаружение флотиллин-2-зависимой регуляции продукции других РОБ, кавеолина-1 и стоматина, что дает новое представление о компенсаторных механизмах,

регулирующих продукцию ВВ. Помимо этого, автором получен ряд данных, имеющих важное научно-методическое значение для исследований в области внеклеточных везикул, в частности, обнаружение нового экзосомального маркера, методические рекомендации в отношении количественной оценки ВВ различного происхождения и ряд других.

Автореферат хорошо структурирован, отражает методические подходы, основные результаты и выводы исследования (7 выводов), полностью соответствующие задачам и результатам исследования. Представлены иллюстрации первичных данных, включая все необходимые контроли, а также данные статистического анализа.

Оригинальность и достоверность результатов, а также личный вклад автора в работу дополнительно подтверждается публикациями в высокорейтинговых научных изданиях, в которых Скрыбина Г.О. является первым автором.

Принципиальных замечаний к автореферату нет.

Суммируя сказанное выше, по актуальности тематики, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертационное исследование Скрыбина Глеба Олеговича на тему «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретируемых клетками злокачественных опухолей» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном уровне.

Работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Скрыбин Глеб Олегович, заслуживает

присуждения ученой степени кандидата наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Доктор биологических наук,
по специальности 1.5.10 – Вирусология,
профессор кафедры биотехнологии
федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего образования
Первый Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский университет)

Адрес: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Телефон: +79260859337

E-mail: dkostushev@gmail.com


Д.С. Костюшев

Согласен на включение моих персональных данных, связанных с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку



Подпись д.б.н., Д.С. Костюшева заверяю: