

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета НТУ.1.5.3.11
Буздина Антона Александровича
на диссертацию Сырочевой Анастасии Олеговны
«Исследование взаимной регуляции экспрессии катепсина В и стефина А в процессе
онкогенной трансформации клеток»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.3 Молекулярная биология

Актуальность темы диссертации

Несмотря на успехи современной онкологии, проблема инвазивного роста и метастатического распространения злокачественных новообразований сохраняет свою значимость, что диктует необходимость углубленного изучения внутриклеточных протеолитических каскадов. Особый интерес представляет катепсин В (CTSB), традиционно рассматриваемый в контексте онкологической трансформации клетки. Однако за рамками предыдущих исследований оставался фундаментальный вопрос о координации экспрессии катепсина В (CTSB) и его эндогенного ингибитора стефина А (STFA). Настоящая работа смещает фокус с периферических механизмов инвазии на эндогенные пути регуляции, включая возможную модуляцию транскрипционной активности. Дополнительно в работе рассматривается необходимость оценки ответа системы CTSB/STFA на химиотерапевтическое воздействие: использование доксорубина в качестве модельного агента позволяет определить ценность данных маркеров в контексте оценки ответа опухолевых клеток на терапию. Таким образом, актуальность диссертационной работы определяется не только её фундаментальной значимостью, но и несомненной практической ценностью, ориентированной на создание подходов к снижению токсичности химиотерапии посредством направленной регуляции эндогенных ингибиторных систем.

Структура и содержание диссертационной работы

Работа построена по стандартному принципу, материалы диссертации изложены на 110 страницах машинописного текста, диссертация содержит 32 рисунка и 8 таблиц. Работа содержит введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы, список литературы (включает 172 источника) и список сокращений

Научная новизна результатов диссертационной работы

Научная новизна представленной работы определяется совокупностью положений, которые впервые раскрывают аспекты регуляции протеолитической системы в норме и при злокачественной трансформации. В исследовании впервые экспериментально обоснован принцип двунаправленной регуляции в паре CTSB/STFA, функционирующей по механизму отрицательной обратной связи. С применением методов генетического нокдауна (shRNA) и фармакологического ингибирования цистеиновых катепсинов убедительно продемонстрировано, что протеолитическая активность CTSB выступает фактором, определяющим уровень внутриклеточного пула STFA.

Во-вторых, впервые описана ядерная локализация белка STFA, а также установлен факт колокализации CTSB и STFA не только в цитоплазматическом, но и в ядерном компартменте. Более того, с использованием метода ChIP-вестерн блоттинга впервые показана способность обоих белков образовывать комплексы с гистоном H3 и ассоциироваться с хроматиновой фракцией, при этом между уровнями их хроматин-связанных форм выявлена строгая положительная корреляция, что позволяет предположить их прямое участие в эпигенетической регуляции.

В-третьих, приоритетным результатом является выявление клеточно-специфических различий в функционировании регуляторной оси CTSB-STFA: впервые проведен дифференцированный анализ влияния доксорубина на систему в нераковых (Hek293T) и опухолевых клетках почек (769p), обнаруживший разнонаправленный характер ответа.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость выполненного исследования заключается в фундаментальном пересмотре роли системы CTSB/STFA в клеточном гомеостазе. В работе впервые обосновано, что регуляторные отношения между протеиназой и ее эндогенным ингибитором не ограничиваются традиционно рассматриваемой цитоплазматической функцией контроля внеклеточного протеолиза, а представляют собой сложную сеть, включающую ядерные процессы. Ключевым теоретическим вкладом является экспериментальное доказательство двунаправленной регуляции, при которой протеолитическая активность CTSB выступает модулятором биосинтеза STFA, что разрушает линейную парадигму «фермент-ингибитор» и демонстрирует каскадный характер их взаимодействия. Обнаружение ядерной локализации STFA и его колокализации с CTSB, а также способности обоих белков образовывать комплексы с гистон H3 расширяет представления о функциях протеиназ, выводя их в плоскость эпигенетической регуляции и структурной организации хроматина. В совокупности полученные данные вносят вклад в развитие молекулярной онкологии и клеточной биологии.

Практическая значимость работы имеет отчетливую клинко-ориентированную направленность и открывает конкретные перспективы для персонализированной онкологии. Прежде всего, установление факта ассоциации CTSB и STFA с хроматином через гистон H3 предлагает новые молекулярные маркеры, потенциально пригодные для оценки степени агрессивности опухолевого процесса и прогнозирования течения заболевания, поскольку уровень хроматин-связанных форм данных белков может отражать глубину эпигенетической дестабилизации злокачественных клеток. Практически значимым является и обоснование возможности использования соотношения CTSB/STFA в качестве прогностического биомаркера ответа на химиотерапию, что позволяет на этапе планирования лечения оценивать вероятную эффективность терапевтических схем и корректировать их в индивидуальном порядке. Особого внимания заслуживают результаты, касающиеся разницы в чувствительности нормальных и опухолевых клеток к доксорубину: выявленный дозозависимый и разнонаправленный характер ответа имеет прикладное значение для пересмотра тактики низкодозовой химиотерапии, которая может оказывать парадоксальное стимулирующее действие на злокачественные клетки. Данный результат создает предпосылки для разработки комбинированных терапевтических подходов, направленных на модуляцию регуляторной оси CTSB-STFA с целью селективного усиления цитотоксического эффекта антрациклинов и одновременной защиты здоровых тканей. Таким образом, полученные в работе данные могут служить основой для создания новых персонализированных стратегий противоопухолевой терапии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность результатов диссертационного исследования обеспечиваются воспроизводимостью экспериментальных данных, корректной статистической обработкой результатов и использованием современных методов исследования, включая молекулярно-биологические, иммунологические и биоинформатические методы, а также научно обоснованными выводами и наличием научных публикаций в высокорейтинговых журналах.

По теме научного исследования опубликовано 5 научных работ в журналах, индексируемых базами данных Web of Science и Scopus и рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации

Содержание автореферата отражает основные результаты исследований, изложенных в диссертации.

Оценка диссертационного исследования

Диссертационная работа Сырочевой Анастасии Олеговны представляет собой законченное экспериментальное исследование, выполненное с применением комплекса взаимодополняющих методов молекулярной и клеточной биологии, включая генетический нокдаун, фармакологическое ингибирование, иммуноцитохимический анализ, ChIP-вестерн блоттинг и количественную оценку экспрессионных профилей. Исследование посвящено решению актуальной фундаментальной проблемы молекулярной онкологии — выявлению механизмов взаимной регуляции протеиназ и их эндогенных ингибиторов в контексте злокачественной трансформации.

Практическая ценность исследования также не вызывает сомнений и заключается в обосновании возможности использования соотношения CTSB/STFA в качестве прогностического биомаркера ответа на химиотерапию, а также в создании подходов для разработки персонализированных подходов, учитывающих дифференциальную чувствительность нормальных и опухолевых клеток к антрациклиновым антибиотикам.

Диссертационное исследование Сырочевой А.О. вносит вклад в развитие представлений о молекулярных механизмах протеолитической регуляции при злокачественной трансформации. По своей актуальности, научной новизне, объему экспериментального материала, теоретической и практической значимости работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационным исследованиям, и заслуживает отличной оценки.


Замечания по диссертации

1. В работе присутствуют грамматические ошибки и опечатки. Это технический комментарий, не снижающий ценности работы.
2. В разделе 2.2.6 описано последовательное иммуноцитохимическое окрашивание препаратов сначала на CTSB, затем на STFA с последующей оценкой колокализации. Оценивалась ли возможная перекрестная реактивность вторичных антител между каналами и проводился ли для каждого канала контроль с исключением первичных антител?
3. Из текста мне было не до конца понятно, что являлось положительным контролем в экспериментах по клеточной трансфекции

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней Автономной некоммерческой образовательной организацией высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус»

Диссертационная работа Сырочевой Анастасии Олеговны представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, посвященное изучению фундаментальных основ канцерогенеза. В рамках работы продемонстрировано, что нарушение регуляции оси CTSB–STFA может играть важную роль в процессах злокачественной трансформации клеток и опухолевой прогрессии. Полученные результаты открывают перспективы для дальнейшего изучения молекулярных основ взаимодействия CTSB и STFA, а также их роли в клеточных процессах в норме и при патологических состояниях.

Диссертационная работа Сырочевой Анастасии Олеговны «Исследование взаимной регуляции экспрессии катепсина В и стефина А в процессе онкогенной трансформации клеток» отвечает требованиям пп.2.1–2.6, п.п.2.8-2.9 Положения о присуждении ученых степеней Автономной некоммерческой образовательной организацией высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», утвержденного приказом от 02 апреля 2026 г. № 469-ОД-У, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Сырочева Анастасия Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 Молекулярная биология

<p>Член диссертационного совета НТУ 1.5.3.11 Доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией биохимических основ фармакологии и опухолевых моделей, и.о. директора НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина</p> <p>Дата: 15.06.2026</p>	<p>Буздин Антон Александрович</p> 
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

(подпись)

Сведения:

Буздин Антон Александрович
Докторская диссертация защищена по специальностям
03.00.03 Молекулярная биология
АНОО ВО «Университет «Сириус» Научный центр
генетики и наук о жизни, фт Сириус Олимпийский пр-кт 1
buzdin.aa@talantiuspeh.ru
8 (862) 241-98-44,

