

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Любченко Людмилы Николаевны, на диссертационную работу Камыниной Маргариты Игоревны на тему «Анализ роли белков-транспортеров цинка и марганца как прогностических и диагностических маркеров в колоректальном раке», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.003.03 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.3. Молекулярная биология, 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы исследования

Колоректальный рак занимает одно из лидирующих мест в глобальной структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований. Это вторая основная причина смертности от рака, и по данным в настоящее время занимает третье место по распространенности, с ежегодной заболеваемостью более 1,9 миллиона новых случаев во всем мире. Ключевым клиническим ограничением остаётся лекарственная резистентность, которая существенно снижает эффективность системной терапии и ухудшает отдаленные результаты лечения. В борьбе с онкологическими заболеваниями существует выраженная потребность в молекулярных предикторах, которые позволяли бы заранее оценить вероятность ответа опухоли конкретного пациента на цитостатическую терапию.

Всё больше данных указывает на то, что дисбаланс ионов цинка и марганца сопряжен с изменением чувствительности опухолевых клеток к препаратам химиотерапии. Известна роль данных ионов в защите клетки от окислительного стресса, в регуляции репарации ДНК и клеточной гибели – то

есть в процессах, непосредственно определяющих цитотоксическое действие ряда препаратов. Имеются данные об изменении экспрессии мембранных транспортеров при новообразованиях, однако вопрос о том, влияет ли активность этих белков на чувствительность опухолевых клеток к химиопрепаратам, остаётся открытым. Данная диссертация направлена именно на восполнение этого пробела: автор экспериментально проверяет, каким образом направленное изменение экспрессии ионных переносчиков семейств SLC30A и SLC39A сказывается на фенотипе и терапевтической чувствительности клеток аденокарциномы кишечника. Такая постановка задачи отвечает практическим запросам персонализированной онкологии, что определяет несомненную актуальность работы.

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

Научные положения, выводы, представленные в диссертационной работе, являются обоснованными и достоверными. Исследование отличается продуманным дизайном, логической стройностью и завершенностью отдельных этапов. Основной вывод о влиянии транспортеров семейства SLC30A на чувствительность к цисплатину получен на двух независимых клеточных моделях, различающихся по драйверным мутациям генов *KRAS* и *CTNNB1*. Результат воспроизведен в нескольких сериях экспериментов, что обеспечивает надежность полученных результатов. Определение полуингибирующих концентраций выполнено с использованием стандартной методологии на основе дозозависимых кривых жизнеспособности. Важным подтверждающим аргументом служат данные транскриптомного профилирования: на всех полученных клеточных линиях показано, что изменение экспрессии генов-транспортеров сопровождается закономерной перестройкой сигнальных путей апоптоза, редокс-регуляции и репарации

ДНК, что позволяет рассматривать выявленные фенотипические эффекты как системные, а не случайные. Выводы, предложенные автором, отличаются взвешенностью и не содержат утверждений, выходящих за рамки экспериментально подтвержденных данных, что свидетельствует о высоком уровне теоретической и методологической образованности соискателя.

Достоверность полученных результатов и новизна исследования

Достоверность результатов обеспечена использованием валидированных клеточных моделей, стандартизированных тестов жизнеспособности и метаболической активности, достаточного числа независимых повторов и адекватного статистического анализа, а также наличием необходимых контролей. Результаты в целом согласуются с ранее опубликованными сведениями о роли изученных белков в метаболизме цинка и марганца.

Научная новизна работы определяется как выбранными моделями, так и впервые полученными данными. Впервые экспериментально показано, что направленное изменение экспрессии конкретных переносчиков ионов: *SLC30A3*, *SLC30A10* разнонаправленно модулирует чувствительность клеток колоректального рака к цисплатину: усиление работы экспортёра *SLC30A10* формирует устойчивость, тогда как усиление работы депонирующего ион *SLC30A3*, напротив, повышает чувствительность к цисплатину. На экспериментально-полученных клеточных линиях с внесенными мутациями установлено, что дисрегуляция транспортеров цинка и марганца сопряжена с изменением активности сигнальных каскадов, определяющих клеточную выживаемость, и сопровождается противоположно направленными изменениями в экспрессии представителей семейств *SLC30A* и *SLC39A*.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

В работе изучены и выявлены конкретные гены-транспортеры *SLC30A10* и *SLC30A3*, изменение экспрессии которых ассоциировано с чувствительностью опухолевых клеток к цисплатину. Это позволяет рассматривать их экспрессионные профили в качестве кандидатных предиктивных маркеров, требующих дальнейшей валидации на клиническом материале. Полученные данные могут послужить основой для планирования таких исследований и обоснования новых подходов к персонализированному выбору химиотерапии у больных колоректальным раком. Показано, что биологический эффект цинка в опухолевой клетке определяется не столько его общим содержанием, сколько внутриклеточным распределением, опосредованным работой конкретных ионных переносчиков. Этот вывод имеет значение для интерпретации результатов исследований, посвященных микроэлементной коррекции в онкологии, и указывает на необходимость более дифференцированного подхода к оценке роли ионов металлов в опухолевом процессе.

В диссертации приведены новые представления о регуляторных функциях генов семейств *SLC30A* и *SLC39A* в опухолевых клетках, продемонстрировано их участие в системной перестройке сигнальных путей и в формировании лекарственного ответа. Созданная панель изогенных клеточных линий и полученные транскриптомные данные могут быть использованы в дальнейших исследованиях, в том числе при поиске новых терапевтических мишеней.

Значимость исследования для науки подкрепляется внедрением результатов диссертации в учебный процесс кафедры медицинской генетики и постгеномных технологий Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при преподавании дисциплин

«Медицинская генетика», «Генетика», «Общая и медицинская генетика» (Акт о внедрении № 597 от 24.02.2025).

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертация соответствует паспортам научных специальностей 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, а именно пункту 2 (исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях генетики, молекулярной биологии, биохимии и других естественных наук), а также 1.5.3. Молекулярная биология, а именно пунктам 3, 11 и 13, касающимся геномики и транскриптомики при патологии человека, молекулярных основ канцерогенеза и методов генной и клеточной инженерии.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Результаты диссертационного исследования опубликованы с надлежащей полнотой: по теме работы подготовлено 7 печатных работ, в том числе три статьи в журналах, индексируемых в международных базах Scopus, PubMed, и четыре публикации в сборниках материалов научных конференций всероссийского и международного уровня. Тематика публикаций охватывает основные блоки диссертации: от роли метаболизма цинка и марганца в канцерогенезе до анализа лекарственной чувствительности генетически модифицированных клеточных линий. Объём и качество публикаций соответствуют требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук.

Характеристика структуры и содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 163 страницах и содержит все определенные ГОСТом структурные элементы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Заключение, Выводы, Список сокращений, Список литературы и Приложение. Список литературы насчитывает 257 источников, иллюстративный материал представлен 31 рисунком и 11 таблицами.

Введение. Обоснована актуальность темы, чётко определены цель и восемь задач исследования, изложены научная новизна и практическая значимость, приведены положения, выносимые на защиту, а также сведения о достоверности и апробации.

Глава 1 «Обзор литературы». В этой главе автор даёт целостное представление о современном состоянии проблемы: рассмотрены роль ионов переходных металлов в организме, механизмы регуляции гомеостаза и токсичности цинка и марганца, их влияние на детоксикацию активных форм кислорода, регуляцию транскрипции, сигнальные пути и путь cGAS–STING, а также отдельно определена проблема заболеваемости колоректальным раком и описана роль гена *KRAS* и его распространенных мутаций в развитии новообразования. Автор демонстрирует глубокое погружение в проблематику исследования, высокую степень владения материалом.

В главе 2 «Материалы и методы» изложены применённые экспериментальные подходы и использованные материалы: для культивирования модельных клеточных линий, редактирования генетического аппарата клеток CRISPR/Cas9 и лентивирусными конструкциями, валидации моделей молекулярно-генетическими методами, флуоресцентной микроскопии, оценки скорости роста и восстановительного потенциала. Для измерения чувствительности к химиотерапевтическим препаратам проведены МТТ-тесты с расчётом IC₅₀, проведены проточно-цитометрический анализ

клеточного цикла, масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, а также секвенирование РНК с последующей биоинформатической и статистической обработкой.

В Главе 3 «Результаты» распределены по одиннадцати разделам и выстроены в логичной последовательности.

Раздел 3.1: пояснено решение выбора мишеней исследования исходя из анализа транскриптомных и биоинформатических данных геномных изменений при раке, имеющихся в открытых источниках. Были оценены исходные уровни экспрессии генов семейств *SLC30A* и *SLC39A*.

Разделы 3.2 и 3.3: получены и всесторонне охарактеризованы клеточные модели: с нокаутами *SLC39A8* и *SLC39A14* и со сверхэкспрессией генов *SLC30A3*, *SLC30A10* и *SLC39A8*. Для всех линий подтверждены внесённые изменения экспрессии генов, оценены темпы роста, распределение по фазам клеточного цикла и митохондриальная активность. Заслуживает одобрения то, что автор открыто указывает случаи, когда получить те или иные клоны не удалось, не завышая полноту факториальной схемы.

Раздел 3.4: методом флуоресцентной микроскопии с зондом FluoZin-3 АМ охарактеризовано внутриклеточное распределение свободного цинка.

Раздел 3.5: изучен микроэлементный состав клеток методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Сопоставление этих независимых подходов, описанных в двух разделах, позволило автору корректно разграничить общий и биодоступный цинк и объяснить компенсаторные сдвиги из-за внесенных мутаций.

Раздел 3.6 является центральным для клинической проекции работы. В нем показано, что модификация генов семейств *SLC30A* и *SLC39A* практически не влияет на чувствительность к цетуксимабу, умеренно и линейно-специфично изменяет чувствительность к винкристину и иматинибу, но существенно и воспроизводимо изменяет чувствительность к цисплатину: сверхэкспрессия *SLC30A10* повышала его IC_{50} в 2,7–4 раза, а сверхэкспрессия *SLC30A3* снижала IC_{50} примерно в 3,3 раза.

Завершающие разделы с 3.7 по 3.11 посвящены транскриптомному профилированию с расчётом уровней активации 3044 молекулярных путей средствами инструмента OncoBox PD и аннотированием по терминам Генной онтологии. Выявлены дифференциально экспрессированные гены и затронутые сигнальные пути, а также обратная регуляция между генами *SLC39A8* и *SLC30A10*. Объяснена роль затронутых изменениями путей в канцерогенезе.

В четвёртой главе «Обсуждение» результаты всесторонне проанализированы и соотнесены с современными литературными данными.

Раздел «Заключение» обобщает основные итоги, а пять сформулированных выводов соответствуют поставленным задачам и полученным результатам.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с установленными требованиями и в сжатой форме корректно воспроизводит структуру, основное содержание, положения и выводы диссертации. Приведённые в нём данные и иллюстрации согласуются с полным текстом рукописи; выносимые на защиту положения и выводы в автореферате и диссертации идентичны.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

К безусловным достоинствам работы относятся её трансляционная направленность, продуманный выбор контрастной пары ионных переносчиков (экспортера и импортера), корректность статистической обработки и сдержанность выводов, а также открытость автора в отношении границ

применимости полученных данных. Наряду с этим по работе имеется ряд замечаний и дискуссионных моментов.

1) Вынесенное в заглавие определение маркеров как «прогностических» раскрыто в меньшей степени, чем «диагностических»: прогностическая составляющая опирается преимущественно на биоинформатический анализ пула биомаркеров средствами инструмента OncoBox PD и на данные литературы, тогда как оценка связи предложенной маркерной панели с показателями выживаемости на собственной клинической выборке пациентов в работе не представлена.

2) Предложенная интерпретация устойчивости к цисплатину, согласно которой депонирование катиона во внутриклеточных везикулах при сверхэкспрессии *SLC30A3* снижает образование координационных связей платины с ДНК, представляется правдоподобной, но прямыми измерениями (например, определением содержания внутриклеточной платины или платиново-ДНК-аддуктов) в работе не изучена.

3) В подписях к рисункам целесообразно единообразно указывать число повторностей и применённый статистический критерий для каждой панели; кроме того, во избежание разночтений следует последовательно разграничивать понятия жизнеспособности клеток и выживаемости пациентов.

4) Поскольку гомеостаз цинка и марганца тесно связан с антиоксидантной защитой и системами репарации ДНК, оценивалась ли (или планируется ли) чувствительность полученных линий к ионизирующему излучению, что имело бы прямое отношение к профилю специальности 3.1.6? И какая модельная система (трёхмерные сфероиды, органоиды, ксенографты или операционный материал пациентов) рассматривается автором как приоритетная для дальнейшей трансляции полученных результатов в клинику?

Отмеченные замечания носят частный и дискуссионный характер, не затрагивают ключевых выводов и не снижают высокой оценки

диссертационной работы в целом. Исследование проведено на высоком научно-методическом уровне, с использованием современного экспериментального инструментария и корректной статистической обработкой. Полученные результаты достоверны, обладают научной новизной и имеют потенциал для дальнейшего применения в фундаментальной и клинической онкологии. Автор продемонстрировал способность самостоятельно формулировать и решать сложные научные задачи.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Камыниной Маргариты Игоревны на тему: «Анализ роли белков-транспортёров цинка и марганца как прогностических и диагностических маркеров в колоректальном раке», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершённым научно-квалификационным исследованием, в котором автор успешно решил ряд задач, связанных с поиском молекулярных факторов, определяющих чувствительность клеток колоректального рака к противоопухолевой терапии. Существенным вкладом является экспериментальное доказательство того, что сверхэкспрессия генов *SLC30A10* и *SLC30A3* разнонаправленно изменяет чувствительность опухолевых клеток к цисплатину, что открывает перспективы стратификации пациентов по риску лекарственной резистентности. Работа полностью соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом № 1179/Р от 29.08.2023 г., приказом № 0787/Р от 24.05.2024 г., приказом № 1085/Р от 10

июля 2025 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Камынина Маргарита Игоревна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.3. Молекулярная биология и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук, (3.1.6. Онкология,
лучевая терапия (ранее 14.01.12 – Онкология)),
заведующая отделом молекулярной генетики и
клеточных технологий

Научно-исследовательского института урологии и
интервенционной радиологии

имени Н.А. Лопаткина – филиала ФГБУ

«Национальный медицинский

исследовательский центр радиологии» Минздрава

России



Любченко Людмила Николаевна

Подпись Любченко Людмилы Николаевны заверяю

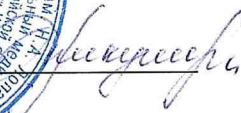
Ученый секретарь НИИ урологии и

интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина –

филиала ФГБУ «Национальный медицинский

исследовательский центр радиологии» Минздрава

России



Никушина Анна Алексеевна

« 12 » августа 2026 г.

Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии имени Н.А.

Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России

Адрес: 105425, г. Москва, ул. 3-я Парковая, д. 51, стр. 1

Телефон: +7 (499) 110-40-67

e-mail: call@niiuro.ru, сайт: <https://new.nmicr.ru/uroline>