

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель генерального директора по
науке – начальник управления
радиационной медицины ФГБУ ГНЦ
ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России
д.м.н., проф. А.Ю. Бушманов



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Камыниной Маргариты Игоревны на тему: «Анализ роли белков-транспортеров цинка и марганца как прогностических и диагностических маркеров в колоректальном раке», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.3 Молекулярная биология; 3.1.6 Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы выполненной работы

Колоректальный рак сохраняет одно из лидирующих мест в статистике онкологической заболеваемости и смертности, а проблема лекарственной устойчивости опухолевых клеток и дефицита надежных предиктивных маркеров ответа на терапию остаётся одной из наиболее острых в современной онкологии. В числе молекулярных регуляторов опухолевого фенотипа всё большее значение придается гомеостазу ионов переходных металлов – в первую очередь цинка и марганца. Эти ионы входят в состав ключевых ферментов антиоксидантной защиты, участвуют в обезвреживании активных форм кислорода, регуляции транскрипции, репликации и репарации ДНК, контроле апоптоза, а также в модуляции сигнального пути cGAS–STING, который известен своей функцией в иммунном ответе. Внутриклеточный баланс Zn^{2+} и Mn^{2+} поддерживается транспортерами семейств SLC30A и SLC39A, экспрессия которых нередко оказывается нарушенной в злокачественных новообразованиях.

Несмотря на имеющиеся сведения о нарушении экспрессии генов семейств SLC30A и SLC39A в опухолях желудочно-кишечного тракта, функциональные последствия этих изменений, особенно в контексте лекарственного ответа, до настоящего времени изучены недостаточно. Диссертация направлена на восполнение именно этого пробела, что придает ей не только теоретическую, но и очевидную прикладную значимость. В этих условиях системное экспериментальное исследование функциональной роли указанных транспортеров и оценка их информативности в качестве диагностических, прогностических маркеров и потенциальных терапевтических мишеней представляются научно обоснованными.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационное исследование выполнено в рамках научной деятельности Института персонализированной онкологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и логически вписывается в приоритетные направления развития молекулярной и персонализированной онкологии.

По своей тематике и методическому исполнению диссертационная работа находится на стыке молекулярной биологии, онкологии, клеточной инженерии и трансляционной медицины. Тематика работы согласуется с государственными приоритетами в области предиктивной, профилактической и персонализированной медицины, а также с задачами совершенствования молекулярной диагностики и индивидуализации противоопухолевой терапии. По своему содержанию исследование отвечает направлениям паспорта научной специальности 1.5.3 Молекулярная биология (пп. 3, 11, 13) и паспорта научной специальности 3.1.6 Онкология, лучевая терапия (п. 2), что подтверждает соответствие работы профилю заявленных специальностей и отраслям науки, в интересах которых она выполнена.

Новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна и оригинальность диссертационной работы не вызывает сомнений. Впервые в рамках единого исследования проведена системная функциональная оценка четырех генов-транспортеров: *SLC30A3*, *SLC30A10*, *SLC39A8* и *SLC39A14* – в экспериментальных моделях опухолей кишечника человека с использованием следующих подходов: CRISPR/Cas9-опосредованного нокаута, стабильной сверхэкспрессии на основе лентивируса, транскриптомного профилирования и серии функциональных тестов. Автором сформированы панели изогенных клеточных линий, позволяющие сравнивать эффекты целевых генетических модификаций в сопоставимых условиях.

Новыми являются полученные данные о том, что изменение экспрессии исследуемых переносчиков сопровождается перераспределением внутри клеток лабильного пула цинка, сдвигом окислительно-восстановительного баланса в клетке, перестройкой транскрипционных программ, особенно связанных со стресс-ответом и апоптозом, а также различным направленным изменением лекарственной чувствительности. Впервые продемонстрирован противоположно направленный эффект двух представителей одного семейства на ответ опухолевых клеток к цисплатине: сверхэкспрессия *SLC30A10* повышала полуингибирующую концентрацию (IC₅₀) цисплатина примерно в 2,7–4 раза, что указывает на формирование резистентности, тогда как сверхэкспрессия *SLC30A3*, напротив, снижала IC₅₀ ориентировочно в 3,3 раза, что подтверждает сенситализацию клеток с такой мутацией к препарату.

Установлена обратная регуляция экспрессии генов *SLC30A10* и *SLC39A8*, указывающая на существование компенсаторных механизмов поддержания ионного гомеостаза при нарушении работы отдельных транспортёров. Принципиально важным является сформулированное автором положение о том, что биологический эффект цинка в опухолевой клетке определяется не столько его суммарным содержанием, сколько внутриклеточным распределением и активностью конкретных переносчиков.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость работы состоит в расширении представлений о роли компартментализации ионов цинка и марганца в регуляции метаболизма и лекарственного ответа клеток колоректального рака, а также в обосновании концепции таргетной модуляции активности транспортеров как более перспективного подхода по сравнению с неспецифическим повышением доступности микроэлемента.

Практическая значимость определяется тем, что гены семейств *SLC30A* и *SLC39A* предложены в качестве кандидатных молекулярных маркеров метаболического статуса и химиочувствительности опухолевых клеток, а также потенциальных мишеней персонализированной терапии колоректального рака. Полученные данные обосновывают ограниченность универсальной коррекции уровня цинка (в том числе с помощью пищевых добавок) и указывают на целесообразность направленного воздействия на конкретные транспортеры.

Основные научные положения, выводы и рекомендации диссертации внедрены в учебный процесс кафедры медицинской генетики и постгеномных технологий Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Сеченовского Университета (Акт о внедрении результатов диссертации в учебный процесс № 597 от 24.02.2025) при преподавании дисциплин «Медицинская генетика», «Генетика», «Общая и медицинская генетика» обучающимся по направлениям подготовки 31.05.01 «Лечебное дело», 32.05.01 «Медико-профилактическое дело», 30.05.01 «Медицинская биохимия» и 06.05.01 «Биоинженерия и биоинформатика».

Личный вклад автора

Автор самостоятельно осуществил анализ научной литературы и разработал стратегию исследования, спроектировал конструкции для CRISPR/Cas9-редактирования и лентивирусной сверхэкспрессии, выполнил трансфекцию и трансдукцию клеточных линий, а также молекулярно-генетическую валидацию полученных моделей.

Соискателем лично проведены функциональные исследования опухолевых клеток *in vitro* (оценка пролиферативной активности, распределения клеток по фазам клеточного цикла, восстановительного потенциала, внутриклеточной локализации ионов цинка), определена чувствительность линий к противоопухолевым препаратам с расчётом показателей IC₅₀, выполнены транскриптомное профилирование и

биоинформатический анализ с выявлением дифференциально экспрессированных генов, терминов генных онтологий и уровней активации молекулярных путей, а также статистическая обработка результатов. Автор подготовил публикации по теме исследования, представил результаты на научных конференциях и написал текст диссертации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные результаты целесообразно использовать:

- 1) в научно-исследовательской работе профильных учреждений молекулярной и трансляционной онкологии (Институт персонализированной онкологии и Институт трансляционной медицины Сеченовского Университета, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России) для валидации выявленных закономерностей на расширенных панелях клеточных линий, трёхмерных культурах, моделях, получаемых из клеток пациентов (PDX), и на клинических выборках больных колоректальным раком;
- 2) в лабораториях, разрабатывающих тест-системы предиктивной молекулярной диагностики химиочувствительности при колоректальном раке;
- 3) в учебном процессе медицинских и биологических образовательных организаций высшего образования при подготовке студентов, ординаторов и аспирантов по дисциплинам молекулярной биологии, медицинской генетики и онкологии (что уже реализовано в Сеченовском Университете);
- 4) для планирования дальнейших фундаментальных и трансляционных исследований, направленных на разработку подходов к персонализированной коррекции работы транспортеров цинка и марганца в опухолевых клетках.

Публикации, отражающие основные положения, результаты, выводы и заключения диссертации

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и PubMed (соответствующих требованиям Перечня рецензируемых научных изданий ВАК при Минобрнауки России / Перечня Университета), и 4 публикации в сборниках материалов всероссийских и международных научных конференций. Публикации в полной мере отражают содержание диссертации.

Структура, содержание и завершенность диссертации

Диссертация выполнена по монографическому принципу и изложена на 163 страницах машинописного текста и имеет традиционную структуру: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных

исследований, обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, список литературы и приложение. Работа иллюстрирована 31 рисунком и 11 таблицами; список литературы включает 257 источников (253 зарубежных и 4 отечественных).

Во введении убедительно обоснована актуальность темы, чётко сформулированы цель и восемь экспериментальных задач, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология, положения, выносимые на защиту, и личный вклад автора. В обзоре литературы (глава 1) систематизированы современные представления о роли метаболизма ионов цинка и марганца в канцерогенезе, что позволило автору аргументированно обозначить недостаточно изученные вопросы и обосновать постановку исследования.

В главе 2 «Материалы и методы исследования» детально описывается дизайн работы, использованные клеточные линии и примененные методы: CRISPR/Cas9-редактирование генома, лентивирусная трансдукция, электрофорез и иммуноблоттинг, флуоресцентная микроскопия, проточная цитофлуориметрия, высокопроизводительное секвенирование РНК с последующей биоинформатической обработкой, определение микроэлементного состава и статистический анализ. Примененные методы современны и адекватны поставленным задачам.

В главе 3 (разделы 3.1–3.11) последовательно представлены результаты: оценка исходных уровней экспрессии генов семейств SLC30A и SLC39A, создание и характеристика линий с нокаутом (*SLC39A8*, *SLC39A14*) и стабильной сверхэкспрессией (*SLC39A8*, *SLC30A3*, *SLC30A10*) целевых генов, визуализация накопления цинка, анализ микроэлементного состава, оценка влияния измененной экспрессии на чувствительность к противоопухолевым препаратам и транскриптомное профилирование с интерпретацией дифференциальной экспрессии генов.

В главе 4 «Обсуждение» полученные данные корректно сопоставлены с результатами других авторов и интегрированы в целостную концепцию. Заключение и пять выводов логически вытекают из материала, соответствуют поставленной цели и задачам.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций обеспечиваются методологически корректным дизайном исследования, достаточным числом биологических повторений, использованием современного высокоточного оборудования и методов статистической обработки. Диссертация представляет собой завершённое самостоятельное научное исследование. Дополнительным свидетельством достоверности работы является депонирование полного массива данных RNA-seq в международной базе GEO. В целом диссертация производит впечатление законченного исследования, выполненного на современном методическом уровне.

Соответствие автореферата содержанию диссертации

Текст автореферата диссертационной работы полностью соответствует её содержанию. Автореферат написан на русском языке.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

К несомненным достоинствам диссертации следует отнести актуальность поставленной проблемы, удачное сочетание методов молекулярной биологии, клеточной инженерии, биоинформатики и функционального тестирования препаратами, а также стремление автора связать фундаментальные механизмы ионного транспорта с практически значимыми вопросами персонализированной онкологии. Важным достоинством является и то, что работа не ограничивается констатацией изменений экспрессии генов, а предлагает их функциональную интерпретацию на уровне метаболических и сигнальных сдвигов.

Принципиальных замечаний, снижающих научную и практическую ценность работы, нет. Вместе с тем диссертация не лишена отдельных ограничений. Прежде всего, основные выводы получены на *in vitro*-моделях, вследствие чего их клиническая экстраполяция требует дальнейшей валидации на независимом материале пациентов и, желательно, *in vivo*-моделях. Кроме того, панели генетически модифицированных клеток оказались не полностью симметричными для обеих линий, что несколько сужает возможности прямого сопоставления отдельных эффектов. В связи с этим хотелось бы услышать мнение автора о том, какие из выявленных маркеров – с учётом линии-зависимости эффектов и невозможности получить часть конструкций, представляются наиболее перспективными для приоритетной клинической валидации. По оформлению работа в целом аккуратна, хотя в тексте встречаются отдельные стилистические и технические неточности, не влияющие на её научное содержание. Высказанные замечания носят дискуссионный характер и не снижают общей высокой оценки диссертационной работы.

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» на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – установление функциональной роли транспортёров ионов цинка и марганца семейств SLC30A и SLC39A в формировании метаболического статуса и лекарственной чувствительности клеток колоректального рака и обоснование возможности использования профилей экспрессии этих генов в качестве кандидатных молекулярных маркеров, имеющей существенное значение для молекулярной биологии и онкологии, что 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 по специальностям 1.5.3 Молекулярная биология, 3.1.6 Онкология, лучевая терапия.

Отзыв на диссертацию Камыниной М.И. заслушан и утвержден на заседании Ученого совета ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (протокол № 5 от «22» июня 2026 г.).

Заведующий лабораторией молекулярной биологии и генетики радиационных эффектов ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России
доктор биологических наук
1.5.1. Радиобиология

01.07.2026 г.

Абдуллаев Серажутдин Абдуллаевич

Заместитель генерального директора по науке –
начальник управления радиационной медицины
ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России
доктор медицинских наук, профессор
3.1.24. Неврология (14.00.13 – Нервные болезни)

01.07.2026 г.

Бушманов Андрей Юрьевич

Подпись доктора биологических наук Абдуллаева С.А. и подпись доктора медицинских наук, профессора Бушманова А.Ю. заверяю:
Ученый секретарь ФГБУ ГНЦ ФМБЦ
им. А.И. Бурназяна ФМБА России,
доктор медицинских наук, доцент

01.07.2026 г.



Горнов Сергей Валерьевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна" 123098, Москва, ул. Живописная 46. Тел.: 8 (499) 638-32-58, E-mail: fmnc@fmbamail.ru