

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-технологическому
развитию ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет),
доктор фармацевтических наук, профессор

В.В. Тарасов

«31» октября 2025 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)**

на основании решения совместного заседания Института персонализированной онкологии и Института трансляционной медицины и биотехнологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Диссертация «Анализ роли белков-транспортеров цинка и марганца как прогностических и диагностических маркеров в колоректальном раке» на соискание ученой степени кандидата биологических наук выполнена в Институте персонализированной онкологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Камынина Маргарита Игоревна, 1998 года рождения, гражданство Российская Федерация, окончила ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в 2021 году по специальности 06.05.01. Биоинженерия и биоинформатика.

В 2021 году зачислена в число аспирантов 1-го курса на очную форму обучения по основной профессиональной образовательной программе высшего образования – программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки 06.06.01. Биологические науки. Отчислена из аспирантуры в 2025 году в связи с окончанием обучения.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов №2192/Ао выдана в ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

С 2025 года работает в должности клеточного биолога в обществе с ограниченной ответственностью «ПраймБиоМед» по настоящее время.

Научные руководители:

Буздин Антон Александрович, доктор биологических наук, профессор РАН, главный научный сотрудник Института персонализированной онкологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Секачева Марина Игоревна, доктор медицинских наук, доцент, директор Института персонализированной онкологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Анализ роли белков-транспортёров цинка и марганца как прогностических и диагностических маркеров в колоректальном раке» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.3. Молекулярная биология и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, принято следующее заключение:

• Оценка выполненной соискателем работы

Камыниной М.И. впервые охарактеризована функциональная роль генов *SLC30A3*, *SLC30A10*, *SLC39A8* и *SLC39A14* в полученных в ходе исследования модельных клетках колоректального рака с измененной экспрессией изучаемых

генов. Особый интерес представляет противоположное влияние модуляции экспрессии *SLC30A3* и *SLC30A10* на концентрацию полуингибирования цисплатина, что может иметь значение при персонализации терапии. Работа отличается высокой степенью методологической проработки: использованы современные молекулярно-биологические подходы, включая CRISPR/Cas9-редактирование, РНК-секвенирование, цитофлуориметрические методы, количественный анализ концентраций полуингибирования препаратов (IC_{50}), спектрометрию микроэлементов и транскриптомный анализ. Важным достоинством исследования является подтверждение полученных данных на нескольких уровнях: от фенотипических эффектов до изменений транскриптома. Статистическая обработка выполнена с использованием современных и общепринятых программных пакетов (GraphPad, R), что обеспечивает достоверность полученных результатов. Результаты исследования обладают как фундаментальной, так и прикладной значимостью: они могут быть использованы в перспективе при формировании индивидуализированных схем терапии на основе экспрессии генов транспортеров металлов. Материалы диссертации изложены в соответствии с требованиями ВАК, структура текста выдержана, изложение последовательное, научный стиль соблюден. Диссертация «Анализ роли белков-транспортеров цинка и марганца как прогностических и диагностических маркеров в колоректальном раке» Камыниной М.И. имеет высокую научную и практическую ценность, демонстрирует глубокое понимание предметной области и владение широким спектром современных экспериментальных методов. Диссертация соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

• **Актуальность темы диссертационного исследования**

Колоректальный рак (КРР) – одно из самых распространённых и опасных онкологических заболеваний. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) за 2022 год, он занимает 3-е место в мире по заболеваемости и 2-е место по смертности. Ежегодно регистрируется около 2

млн новых случаев, и почти 1 млн пациентов умирает от этой болезни. Высокая смертность связана, главным образом, с поздним выявлением и метастазированием опухоли (особенно часты метастазы в печени, при которых средняя выживаемость не превышает ~30 месяцев). Кроме того, примерно у половины пролеченных пациентов в течение нескольких лет развивается рецидив опухоли.

В связи с этим, решающее значение имеет ранняя диагностика КРР. Современное лечение колоректального рака во многом определяется стадией процесса, однако на исход влияют и другие факторы, в том числе молекулярно-генетические особенности опухоли. Поэтому сегодня активно ищутся новые биомаркеры для ранней диагностики и прогноза эффективности терапии. Выявление таких маркеров позволит не только своевременно обнаруживать опухоль, но и подбирать оптимальную лечебную тактику. В контексте данного исследования особый интерес представляют гены, кодирующие белки-ионные транспортеры: предполагается, что изменения в их работе могут служить индикаторами агрессивности опухоли и влиять на чувствительность к терапии. Ранее не изучалось, каким образом накопление цинка влияет на фенотип клеток колоректального рака, и изменяется ли он при мутациях в генах, кодирующих ионные транспортеры. Именно поэтому важным предметом изучения являются гены семейств SLC30A и SLC39A при колоректальном раке.

• Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации

Научные результаты, обобщенные в работе Камыниной М.И., получены ею самостоятельно в ходе работы в Институте персонализированной онкологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Соискатель самостоятельно осуществила планирование и дизайн экспериментов, направленных на изучение роли генов семейств SLC30A и SLC39A в канцерогенезе колоректального рака, определила стратегию подходов к нокаутированию и сверхэкспрессии целевых генов.

Лично выполнила молекулярно-биологические эксперименты *in vitro*, включая создание и поддержание клеточных культур, нокауты методом CRISPR-Cas, трансфекцию и трансдукцию лентивирусными конструкциями, а также отбор и верификацию клонов клеточных линий с нокаутами (*SLC39A8*, *SLC39A14*) и со сверхэкспрессией (*SLC30A3*, *SLC30A10*, *SLC39A8*).

Провела ряд функциональных тестов, а именно: анализ пролиферации клеток и кривых роста, включая расчёт времени удвоения клеточных популяций, а также исследование влияния нокаута и сверхэкспрессии генов на митохондриальное дыхание с использованием резазуринового теста, эксперименты по валидации содержания цинка в клетках, а также в анализе чувствительности клеток к цисплатину и другим лекарственным препаратам.

Приняла участие в проведении РНК-секвенирования и биоинформатической обработке данных, включая оценку дифференциальной экспрессии генов, пересечения наборов генов, а также анализ молекулярных путей с использованием базы данных Oncobox pathway databank, разработанной в лаборатории.

Автор активно участвовала в поиске и анализе литературных источников, обрабатывала и интерпретировала результаты, представляла и апробировала результаты исследований на конференциях. Автор занималась теоретическим анализом, разработкой исследовательской стратегии, подготовкой и написанием публикаций по теме исследования, осуществляла написание текста диссертации.

• Степень достоверности результатов проведенных исследований

Все экспериментальные данные были получены с использованием современного и высокоточного оборудования, что позволяет считать полученные результаты исследования достоверными. Статистическая обработка результатов проводилась в программе GraphPad Prism 8.0.1 по расчету критерия Стьюдента или однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), с использованием теста Тьюки для сравнения переменных, и расчета *p*-значений для определения статистически значимых различий в средних

значениях. Для анализа данных транскриптома была применена среда R, что также подтверждает современный подход к статистической обработке. Также экспериментальные данные согласуются с результатами научных исследований, опубликованными в статьях в этой области научных знаний об участии белков-транспортёров цинка и марганца в канцерогенезе, характеристике локализации этих белков и способности к переносу цинка. Экспериментальные методы, зарекомендовавшие себя в многочисленных научных трудах, выбирались в зависимости от поставленной задачи, и проводились с достаточным числом биологических повторений, что гарантирует репрезентативность и воспроизводимость полученных результатов. Полученные в процессе диссертационного исследования научные результаты легли в основу написания статей, опубликованных в высокорейтинговых зарубежных журналах.

• **Научная новизна результатов проведенных исследований**

В данной работе впервые было исследовано, влияет ли сверхэкспрессия или инактивация генов семейств SLC30A и SLC39A на фенотип раковых клеток и их чувствительность к противораковым препаратам. В клеточных линиях аденокарциномы толстой кишки человека HCT-15 с *KRAS*-мутацией и клеточной линии аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu80 с мутацией *CTNNB1* были получены клоны с нокаутами генов *SLC39A8* и *SLC39A14* и принудительной сверхэкспрессией генов *SLC30A3*, *SLC30A10* и *SLC39A8*. Обнаружено, что сверхэкспрессия или инактивация генов семейств SLC30A и SLC39A приводит к перестройке внутриклеточной сигнализации, провоцируя гиперактивацию митохондриального дыхания и влияя на накопление цинка в живых клетках. Внутриклеточное перераспределение ионов цинка, под действием измененной экспрессии генов SLC30A и SLC39A, регулирует сигнальные пути, связанные с апоптозом и стрессовым ответом. Впервые продемонстрирована обратная зависимость экспрессии гена *SLC30A10* и от нокаута, и от сверхэкспрессии гена *SLC39A8*. Изменения уровней экспрессии генов SLC30A/SLC39A оказывали различающиеся в зависимости от

клеточных линий влияние на изменение чувствительности к цетуксимабу, винкристину и иматинибу, но одинаково значимо изменяли чувствительность к цисплатину: сверхэкспрессия *SLC30A10* приводила к увеличению концентрации полуингибирования (IC_{50}) цисплатина в $\sim 2,7 - 4$ раза, а сверхэкспрессия *SLC30A3* - к снижению IC_{50} цисплатина в $\sim 3,3$ раза.

• **Практическая значимость проведенных исследований**

Полученные результаты позволяют рассматривать гены *SLC30A/SLC39A*, как потенциальные биомаркеры устойчивости к противораковым препаратам, и как предполагаемые терапевтические мишени.

• **Ценность научных работ соискателя ученой степени**

В представленной работе впервые комплексно изучена роль семейств генов *SLC30A* и *SLC39A* в регуляции гомеостаза ионов металлов и функциональной активности клеток колоректального рака. В исследовании на модельных клеточных линиях аденокарцином толстой и двенадцатиперстной кишки (HCT-15 и HuTu80) показано, что изменённая экспрессия генов этих семейств, участвующих в транспорте цинка и марганца, влияет на жизнеспособность опухолевых клеток, митохондриальное дыхание и чувствительность к химиотерапевтическим препаратам.

Научная ценность работы заключается в выявлении функциональной роли *SLC30A10* в механизмах лекарственной устойчивости. Показано, что сверхэкспрессия гена сопровождается повышением митохондриальной активности и значительной устойчивостью клеток к цисплатину, что может быть связано с антиоксидантной защитой, опосредованной цинксодержащими ферментами, включая супероксиддисмутазу. Эти данные расширяют представления о механизмах химиорезистентности колоректального рака и подчёркивают потенциальную значимость *SLC30A10* как биомаркера прогноза ответа на терапию.

Полученные результаты создают основу для дальнейших исследований молекулярных механизмов устойчивости к препаратам платины, в том числе для изучения вклада конкуренции ионов при поглощении клеткой, и роли

митохондриального ответа на окислительный стресс, инициируемый изменением экспрессии генов ионных транспортеров.

• **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Основные научные положения, выводы и рекомендации диссертации внедрены в учебный процесс кафедры медицинской генетики и постгеномных технологий Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин «Медицинская генетика», «Генетика», «Общая и медицинская генетика», читаемых студентам по направлениям подготовки 31.05.01. Лечебное дело, 32.05.01. Медико-профилактическое дело, 30.05.01. Медицинская биохимия, 06.05.01. Биоинженерия и биоинформатика. Акт 597 от 24.02.2025.

• **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

Основные научные положения диссертации соответствуют направлениям исследований Паспорта научной специальности 1.5.3. Молекулярная биология (отрасль науки – биологические, медицинские) пунктов 3, 11 и 13: п. 3 «Структура геномов, геномика, эпигеномика и транскриптомика. Биоинформатические методы анализа баз данных последовательностей ДНК, РНК и белков, в том числе при патологии у человека», п. 11 «Молекулярные основы патологий, в том числе канцерогенеза, иммунодефицитов, аутоиммунных, нейродегенеративных и других заболеваний животных и человека», п. 13 «Генная, белковая и клеточная инженерия, геномное конструирование».

Также научные положения диссертации соответствуют Паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направлению исследований пункта 2 «Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)».

• **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По результатам исследования опубликовано 7 работ, в том числе 3 научные статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Scopus, PubMed, 4 публикации в сборниках материалов всероссийских и международных научных конференций.

Научные статьи в научных изданиях, включенных в международные индексируемые базы данных Scopus, PubMed:

1) Forced Overexpression and Knockout Analysis of SLC30A and SLC39A Family Genes Suggests Their Involvement in Establishing Resistance to Cisplatin in Human Cancer Cells, November 2024 / M. Kamynina, J. M. Rozenberg, A. S. Kushchenko [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25. – № 22. – 12049. [Electronic resource]

2) Lapatinib-induced enhancement of mitochondrial respiration in HER2-positive SK-BR-3 cells: mechanism revealed by analysis of proteomic but not transcriptomic data, September 2024 / D. Kamashev, N. Shaban, G. Zacharova, A. Modestov, M. Kamynina [et al.] // Frontiers in Molecular Biosciences. – 2024. – Vol. 11. – 1470496. [Electronic resource]

3) The Role of the Metabolism of Zinc and Manganese Ions in Human Cancerogenesis, May 2022 / J. M. Rozenberg, M. Kamynina, M. Sorokin [et al.] // Biomedicines. – 2022. – Vol. 10. – № 5. – 1072. [Electronic resource]

Материалы конференций по теме диссертационного исследования:

1) Камынина, М. И. Создание трансгенных линий клеток НСТ-15 с нокаутом в генах, отвечающих за метаболизм Zn^{2+} и Mn^{2+} // Материалы XIII Российской (итоговой) научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2022», посвященная 95-летию со дня рождения члена-корреспондента РАМН, профессора И.Г. Урсова / – Новосибирск : ИПЦ НГМУ, 2022. – Т. 1. – С. 236-237.

2) Камынина, М. И. Изучение трансгенных линий клеток с нокаутом в генах, отвечающих за метаболизм Zn^{2+} и Mn^{2+} / М. И. Камынина,

Ю. М. Розенберг, А. А. Буздин. – Текст: непосредственный // Успехи молекулярной онкологии. Приложение: материалы VIII Всероссийской конференции по молекулярной онкологии / ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; под общей редакцией М. А. Красильникова. – Москва: ООО «ИД «АБВ-пресс», 2023. – № 4. – Т. 10. – С. 17.

3) Камынина, М. И. Анализ микроэлементного состава трансгенных линий клеток с нокаутом в генах, отвечающих за метаболизм Zn^{2+} и Mn^{2+} / М. И. Камынина, А. А. Буздин. – Текст: непосредственный // Сборник тезисов докладов X Всероссийской научной молодежной школы-конференции «Химия, физика, биология: пути интеграции» / Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук (ФИЦ ХФ РАН). – Москва: ФИЦ ХФ РАН, 2024. – С. 147-148.

4) Камынина, М. И. Изучение роли генов семейств SLC30A и SLC39A в процессе канцерогенеза колоректального рака // Сборник тезисов XX Международной (XXIX Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых / РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Пироговский Университет); Студенческое научное общество Пироговского Университета. – Москва : ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 2025. – С. 123.

• **Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:**

Creation and study of transgenic colorectal cancer cell lines with a knockouts in genes responsible for Zn^{2+} и Mn^{2+} metabolism // XV Международная научная конференция SCIENCE4HEALTH – РУДН. – Москва, 25-26 апреля 2024 г.

Заключение

Диссертация соответствует требованиям п. 21 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения

Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом от 06.06.2022 № 0692/Р, и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Камыниной Маргариты Игоревны на тему «Анализ роли белков-транспортеров цинка и марганца как прогностических и диагностических маркеров в колоректальном раке» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.3. Молекулярная биология и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Заключение принято на совместном заседании Института персонализированной онкологии и Института трансляционной медицины и биотехнологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Присутствовало на заседании 12 чел.

Результаты голосования: «за» – 12 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 85.03.01/2025-09 от 18 сентября 2025 г.

Председательствующий на заседании

Доктор биологических наук,
главный научный сотрудник
Центра синтетической биотехнологии
Института трансляционной медицины и биотехнологии
Научно-технологического парка биомедицины
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)



М.Л. Филипенко