

Заключение комиссии диссертационного совета 24.1.255.01 на базе Федерального государственного автономного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) по диссертации Житкевич Аллы Сергеевны на тему: «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Научный руководитель:

Гордейчук Илья Владимирович — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)

Диссертация Житкевич Аллы Сергеевны посвящена изучению механизмов влияния белков ВИЧ-1, в частности, обратной транскриптазы и протеазы, на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения. Методологическая основа работы заключалась в изучении механизмов, приводящих к усилению онкогенного потенциала злокачественных клеток эпителиального происхождения под действием белков ВИЧ-1 на модели клеточной линии аденокарциномы молочной железы мыши 4T1lus2 и ее ранее полученных производных, экспрессирующих обратную транскриптазу или протеазу ВИЧ-1, а также на модели ВПЧ16+ клеточной линии плоскоклеточного рака шейки матки человека Ca Ski и полученных в ходе работы производных, экспрессирующих обратную транскриптазу ВИЧ-1.

Впервые было продемонстрировано, что обратная транскриптаза ВИЧ-1 способна адаптировать клетки аденокарциномы к среде с высоким содержанием активных форм кислорода путем смещения их метаболизма в сторону митохондриального дыхания за счет перестройки митохондриальной сети, что может увеличивать подвижность клеток и объясняет их повышенную туморогенность и метастатический потенциал. Также впервые показано, что протеаза ВИЧ-1 изменяет миграционную активность клеток аденокарциномы *in vitro* и *in vivo*, что связано не с индукцией окислительного стресса, а с ферментативной активностью вирусного белка. В работе были впервые получены производные ВПЧ16+ клеточной линии плоскоклеточного рака шейки матки человека Ca Ski, экспрессирующие обратную транскриптазу ВИЧ-1. Продемонстрировано, что в ВПЧ16+ клетках обратная транскриптаза ВИЧ-1 способна влиять на онкогенез, индуцированный ВПЧ16, за счет модуляции экспрессии онкобелка *E6*, а именно повышения уровня мРНК изоформы *E6*1* и/или более гликолитическому метаболизму, что является отличительной чертой злокачественных клеток. Представленные данные показывают, что экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 в эпителиальных клетках, содержащих полноразмерный геном ВПЧ16, придает им определенную адаптивность и

пластичность, позволяя сохранять ключевые свойства, то есть преодолевать эффекты лентивирусной трансдукции.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что полученные знания о способности обратной транскриптазы ВИЧ-1 влиять на клеточный метаболизм, а ферментативно активной протеазы ВИЧ-1 влиять на миграционную активность опухолевых клеток углубили понимание патогенеза инфекции ВИЧ-1, включая стимуляцию процесса образования и распространения ассоциированных с ВИЧ-1 злокачественных новообразований, тем самым объясняя феномен ВИЧ-1-ассоциированного канцерогенеза, не связанного с иммунной супрессией. Полученные в работе данные подчеркивают сложные взаимодействия, возникающие в клетке при ко-инфекции ВИЧ-1 и ВПЧ16, и могут быть применены для изучения детальных аспектов взаимодействий белков ВИЧ-1 с другими онкогенными вирусами или отдельными вирусными белками. Практическая значимость работы заключается в том, что оценка влияния уровня циркулирующей в крови обратной транскриптазы на частоту выявления злокачественных новообразований у пациентов, получающих эффективную антиретровирусную терапию (АРТ), может стать основой для определения оптимальной частоты мониторинга злокачественных новообразований среди ВИЧ-инфицированных лиц. Полученные в работе данные о механизмах канцерогенеза при ко-инфекции ВИЧ-1/ВПЧ16 могут быть использованы при модификации протоколов лечения. Полученные производные линии клеток Ca Ski могут быть использованы в качестве модели для оценки эффективности противовирусных препаратов и комбинированных протоколов лечения при ко-инфекции. Продемонстрированная в работе способность протеазы ВИЧ-1 влиять на миграционную активность клеток, приводящая к усилению метастатической активности опухолевых клеток, может стать основой для проведения исследований по оценке частоты метастазирования опухолей у пациентов с ВИЧ-1, получающих АРТ, включающую и не включающую ингибиторы протеазы ВИЧ-1, для оптимизации протоколов лечения.

Комиссия диссертационного совета отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

определены возможные механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения;

установлено, что продукция обратной транскриптазы ВИЧ-1 приводит к усилению митохондриального дыхания и уровня продукции АТФ в клетках аденокарциномы молочной железы мыши 4T1uc2, не влияя на процесс гликолиза и уровни субстратов, поступающих в цикл Кребса, но связано с перестройкой митохондриальной сети при индуцированном обратной транскриптазой снижении митохондриальной массы;

представлены данные, доказывающие, что рекомбинантные обратные транскриптазы ВИЧ-1 усиливают экспрессию белка E6 ВПЧ16 в линии клеток плоскоклеточного рака шейки матки человека Ca Ski, содержащей полноразмерный геном ВПЧ16, не влияя на экспрессию белка E7 ВПЧ16;

выявлено:

- экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 в клетках Ca Ski увеличивает уровень мРНК изоформы *E6*1* ВПЧ16, модулирует экспрессию факторов эпителиально-мезенхимального перехода (E-CADHERIN, VIMENTIN и N-CADHERIN), усиливает гликолиз и ингибирует митохондриальное дыхание;

- высокий уровень экспрессии обратной транскриптазы ВИЧ-1 способен компенсировать неблагоприятные эффекты лентивирусной трансдукции и/или (сверх)экспрессии зеленого флуоресцентного белка в клетках Ca Ski, восстанавливая клоногенную способность экспрессирующих обратную транскриптазу клеток до уровней, наблюдаемых в исходной клеточной линии;

получены:

- данные, подтверждающие, что высокий уровень экспрессии обратной транскриптазы ВИЧ-1 предотвращает снижение туморогенного потенциала клеток линии Ca Ski, наблюдаемое при трансдукции данных клеток лентивирусом, кодирующим зеленый флуоресцентный белок;

- данные, подтверждающие, что влияние протеазы ВИЧ-1 на миграционную активность клеток аденокарциномы молочной железы мыши 4T1luc2 связано не с индукцией окислительного стресса, а с ее ферментативной активностью, что подтверждается изменением подвижности клеток под действием как ингибиторов протеазы ВИЧ-1, так и антиоксиданта N-ацетилцистеина;

использованы современные методы исследования, применен адекватный дизайн и статистические методы обработки полученных данных, а объем и качество проанализированного материала являются достаточными для решения поставленных задач и получения репрезентативных данных.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Автором самостоятельно проведено планирование, организация всех этапов диссертационного исследования; определены цели и задачи, осуществлена систематизация и сбор первичных данных и их статистическая обработка. Результаты исследования представлены на российских и международных конференциях, подготовлены основные публикации по выполненной работе. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформы, идейной линии, концептуальности и взаимосвязи выводов.

Использование современных методологических подходов, статистическая обработка данных, объективность в изложении концептуальных положений диссертации, аргументированная интерпретация научных результатов и выводов позволяют считать результаты диссертационного исследования достоверными и обоснованными. В работе были использованы современные молекулярно-биологические методы, а также методы работы с животными.

Диссертация соответствует профилю диссертационного совета 24.1.255.01. Диссертация не содержит недостоверных сведений в опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Достоверность результатов подтверждена корреляцией полученных

практическими методами данных с теоретическими заключениями. Текст диссертации, представленный в диссертационный совет, идентичен тексту диссертации, размещенному на сайте ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Проведенный анализ отчета системы «Антиплагиат.Эксперт» показал, что автором рукописи диссертации были правомерно использованы ранее опубликованные тексты в объемах, оправданных целями цитирования, с указанием необходимых ссылок на используемые источники информации и соблюдением авторских прав правообладателей. Неправомерных совпадений нет. Другие показатели распределены следующим образом: цитирования – 9,16%; самоцитирования – 15,22%, оригинальность – 75,62%. Долю уникального авторского текста в работе следует определять, как сумму показателей самоцитирования и оригинальности, что составляет 90,84%.

Диссертация содержит достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты. По материалам диссертации опубликованы 3 научные публикации: 1 научная публикация в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК, 2 научные публикации в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международных базах данных – Web of Science, Scopus, PubMed.

Комиссия диссертационного совета пришла к выводу о том, что диссертация Житкевич Аллы Сергеевны на тему: «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения» представляет собой научно-квалификационную работу, по объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.; №650 от 29.05.2017 г.; №1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.01.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; №101 от 26.01.2023 г.; с изменениями в действующей ред. №62 от 25.01.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, ученой степени кандидата наук.

В качестве официальных оппонентов рекомендуются:

Бобкова Марина Ридовна – доктор биологических наук, главный специалист лаборатории биологии лентивирусов, отдела вирусологии им. О.Г. Анджапаридзе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (Россия, г. Москва, ул. Малый Казенный переулок, д.5а).

Липатова Анастасия Валерьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пролиферации клеток Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук. (Россия, г. Москва, ул. Вавилова, 32, стр. 1).

В качестве ведущей организации рекомендуется назначить:

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере

защиты прав потребителей и благополучия человека. (Россия, Новосибирская область, рп. Кольцово).

Заключение: комиссия Диссертационного совета 24.1.255.01 рекомендует диссертацию Житкевич Аллы Сергеевны на тему: «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на опухолевый потенциал клеток эпителиального происхождения» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология принять к защите.

Заключение подготовили члены комиссии Диссертационного совета 24.1.255.01:

Председатель комиссии:

Заведующий лабораторией полиомиелита и других энтеровирусных инфекций с референс-центром ВОЗ по надзору за полиомиелитом
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
доктор биологических наук

Л.И. Козловская

Члены комиссии:

Ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
доктор биологических наук

А.С. Гамбарян

Заведующий лабораторией клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
доктор медицинских наук

Н.М. Колясникова

Подписи: д.б.н. Л.И. Козловской, д.б.н. А.С. Гамбарян, д.м.н. Н.М. Колясниковой удостоверяю. Ученый секретарь ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита),
кандидат биологических наук

«14» октября 2024 г.



А.В. Белякова