

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Житкевич Аллы Сергеевны «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

### Актуальность темы:

Инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), является одной из самых серьезных проблем в области здравоохранения. В настоящее время злокачественные новообразования (ЗНО) являются основной причиной смерти людей, инфицированных ВИЧ. Люди, живущие с ВИЧ-инфекцией и синдромом приобретенного иммунодефицита (СПИД) имеют повышенный риск развития ЗНО различных локализаций. При этом инфицирование ВИЧ ассоциируется не только с повышенной частотой заболеваемости ЗНО, но и с ускоренным прогрессированием и тяжестью течения заболевания. В первые годы эпидемии ВИЧ-инфекции к СПИД-обусловленным онкологическим заболеваниям относили опухоли, этиологической причиной которых являются онкогенные вирусы - саркому Капоши и инвазивный рак шейки матки и др., что объяснялось повышенной восприимчивостью ВИЧ-инфицированных к различным вирусным инфекциям, в том числе инфекциям, вызванным онкогенными вирусами. С момента внедрения антиретровирусных препаратов продолжительность жизни людей, живущих с ВИЧ/СПИД, значительно увеличилась. Но тем не менее, около 25 % всех смертей связаны с ЗНО, такими как рак легких, рак анального канала, рак печени, колоректальный рак и рак яичек.

Современные эпидемиологические данные указывают на то, что частота возникновения и прогрессирование ЗНО у ВИЧ-инфицированных не является исключительно результатом подавления иммунитета, вызванного ВИЧ-инфекцией. Последние данные свидетельствуют о том, что сам ВИЧ может способствовать развитию злокачественных новообразований. Хроническое воспаление, которое является отличительной чертой ВИЧ-инфекции, в значительной степени индуцирует возникновение и прогрессию новообразований. Кроме того, предполагается, что ВИЧ и его вирусные белки играют важную роль в механизмах, лежащих в основе канцерогенеза. Это может быть связано с действием специфических вирусных белков, кодируемых ВИЧ, таких как Tat-1 и Nef, которые могут напрямую способствовать канцерогенезу, в том числе в эпителиальных клетках. Однако конкретные механизмы, лежащие в основе этой связи, до сих пор недостаточно хорошо изучены.

При этом, обратная транскриптаза и протеаза ВИЧ-1 являются наименее изученными вирусными белками в отношении влияния на онкогенные

характеристики клеток эпителиального происхождения. Понимание этих механизмов имеет решающее значение для как для фундаментальной вирусологии и онкологии, так и для совершенствования стратегий профилактики и лечения ВИЧ-инфицированных.

**Целью данной работы было:**

Исследование механизмов влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения.

Задачи исследования сформулированы исходя из цели работы:

1. Оценить влияние продукции обратной транскриптазы (RT) ВИЧ-1 в клетках аденокарциномы молочной железы мыши 4T1Luc2 на два ключевых метаболических процесса клеток: гликолиз и митохондриальное дыхание;
2. Оценить влияние вариантов RT ВИЧ-1 на экспрессию онкогенов E6/E7 ВПЧ16 на модели клеточной линии плоскоклеточного рака шейки матки человека CaSki с интегрированным геномом ВПЧ16;
3. Оценить фенотипические характеристики, метаболическую активность и характер экспрессии генов в субклонах линии CaSki, стабильно продуцирующих RT ВИЧ-1;
4. Охарактеризовать туморогенный потенциал полученных субклонов линии CaSki, продуцирующих RT ВИЧ-1, в иммунодефицитных мышцах линии Nu/J;
5. Оценить окислительно-восстановительный статус и миграционный потенциал в субклонах линии 4T1Luc2, экспрессирующих протеазу (PR) ВИЧ-1.

Цель и задачи сформулированы четко и соответствуют теме работы.

**Научная новизна:**

При выполнении работы автором были использованы две модели эпителиальных опухолей, экспрессирующих обратную транскриптазу ВИЧ-1 (RT): метастатической аденокарциномы молочной железы мыши 4T1 и плоскоклеточного рака шейки матки человека Ca Ski, содержащей геном вируса папиллом человека типа 16 (ВПЧ 16).

Автором продемонстрировано, что экспрессия RT ВИЧ-1 в клетках 4T1 приводит к изменениям митохондриальной сети, которые сопровождаются снижением количества митохондрий и увеличением доли клеток с нитевидным фенотипом митохондрий. Впервые показано, что RT ВИЧ-1 приводит к усилению митохондриального дыхания и повышению уровня продукции АТФ в клетке, при этом не влияя на процесс гликолиза и уровни субстратов, поступающих в цикл Кребса.

Показано, что в клетках Ca Ski, экспрессирующих обратную транскриптазу ВИЧ-1 штамма FSU\_A, происходит увеличение гликолиза и подавление митохондриального дыхания.

Впервые продемонстрировано, что экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 может модулировать экспрессию вирусных онкогенов ВПЧ 16 типа, что выразалось в увеличении уровня мРНК изоформы E6\*I ВПЧ16. Показано, что экспрессия RT ВИЧ-1 в клетках Ca Ski ассоциирована с изменениями экспрессии ключевых маркеров эпителиально-мезенхимального перехода E- и N-кадгерина и виментина. Показано, что экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 клетками линии Ca Ski предотвращает снижение туморогенной активности опухолевых клеток в экспериментах *in vivo* по сравнению с контрольными клетками.

Кроме того, было впервые показано, что протеаза ВИЧ-1 изменяет миграционную активность клеток аденокарциномы *in vitro* и *in vivo*, что связано с ее ферментативной активностью.

#### **Теоретическая и практическая значимость:**

Эпидемия ВИЧ-инфекции продолжается уже несколько десятков лет. ВИЧ/СПИД продолжает оставаться важнейшей медико-социальной проблемой во всем мире, поскольку число заболевших и инфицированных продолжает неуклонно расти. Несмотря на то, что повышается доля больных, получающих антиретровирусную терапию (АРТ), и снижается количество и процент людей, умерших от СПИДа, наблюдается увеличение доли пациентов с ВИЧ, умерших от причин, не связанных с ВИЧ. Крупные научные исследования показали, что риск развития онкопатологий при ВИЧ для некоторых нозологических форм в несколько раз или десятков раз выше, чем у ВИЧ-отрицательных пациентов. В то же время, выраженное иммунодефицитное состояние при ВИЧ-инфекции, является хотя и важной, но не единственной причиной увеличения риска развития онкопатологий у пациентов с ВИЧ. Накапливается все больше данных, что ВИЧ и вирусные белки могут напрямую или опосредованно участвовать в процессах, связанных с образованием и прогрессией различных эпителиальных опухолей человека.

В настоящей работе показано, что механизмом индуцируемого обратной транскриптазой ВИЧ-1 увеличения продукции АФК является усиление митохондриального дыхания, связанное с перестройкой митохондриальной сети, а также увеличение туморогенного и метастатического потенциала клеток аденокарциномы молочной железы в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

Кроме того, представленные экспериментальные данные указывают на сложные взаимодействия, возникающие при ко-инфекции ВИЧ-1 и вирусов папиллом человека высокого канцерогенного риска, таких как ВПЧ типа 16.

Так, экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 в ВПЧ16-положительных цервикальных клеточных линиях Ca Ski повышает уровень мРНК изоформы E6\*I ВПЧ влияет на их клоногенную активность и канцерогенный потенциал, а также влияет на метаболические пути в опухолевых клетках.

Ограниченное количество экспериментальных исследований, направленных на анализ функций вирусных белков ВИЧ при онкопатологиях, масштабность медико-социальной проблемы, связанной с ВИЧ-инфекцией, подчеркивает фундаментальную и практическую значимость данной диссертационной работы.

**Оценка достоверности:**

Достоверность представленного фактического материала базируется на широком комплексе современных вирусологических и молекулярно-генетических методов. Материалы исследования были представлены и обсуждены в докладах на 6 международных конференциях: VII Петербургский международный онкофорум «Белые ночи» (Санкт-Петербург, Россия, 2021); международная конференция «Rīga Stradiņš University Research Week 2021» (Рига, Латвия, 2021); 2-я международная конференция «Cancer metastasis» (онлайн формат, 2021); международная конференция «Chronic viral infection and cancer, openings for 8 vaccines 2021» (онлайн формат, 2021); международная конференция «2022 ISV Annual Congress» (онлайн формат, 2022); III Объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов (Сочи, Россия, 2022).

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК, иллюстрирован достаточным количеством рисунков, качественно отражающих результаты. Основные результаты исследования отражены в трех научных публикациях: одна статья - в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК, две статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международных библиографических базах данных – Web of Science, Scopus, PubMed. Все три публикации соответствуют требованиям категорирования журналов, в которых должны быть опубликованы результаты диссертационного исследования.

Положения диссертации соответствуют пунктам 4, 6 паспорта специальности 1.5.10. Вирусология.

**Заключение:**

Согласно автореферату диссертационная работа Житкевич Аллы Сергеевны на тему: «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, является законченной научно-квалификационной работой соответствует требованиям пункта 9 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 кандидата наук, а сама автор – Житкевич Алла Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

**Отзыв составил:**

Заведующий лабораторией молекулярной биологии вирусов  
Научно-исследовательского института канцерогенеза Федеральное  
государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский  
исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации  
кандидат биологических наук  
e-mail: s.vinokurova@ronc.ru  
тел: 8(916)932-10-49

Винокурова Светлана Владимировна

Подпись к.б.н. Винокуровой С. В. заверяю  
Ученый секретарь НИИ канцерогенеза  
ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина"  
Минздрава России, к.б.н.



Гудкова Маргарита Владимировна

«19» 11 2024 г.