

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

Роспотребнадзора,

доктор биологических наук

А.П. Агафонов

2024 г.



## ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на диссертацию 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

### Актуальность темы диссертационной работы

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) остаётся одной из основных проблем глобального общественного здравоохранения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) на сегодняшний день этот вирус унёс 40,4 миллиона человеческих жизней. Распространение инфекции продолжается во всем мире; при этом в ряде стран, в том числе и в России, отмечаются тенденции роста числа новых случаев инфицирования.

Спутниками ВИЧ-инфекции являются онкологические заболевания, вероятность развития которых у лиц больных синдромом приобретённого иммунного дефицита (СПИД) повышается во много раз. И хотя при использовании современной антиретровирусной терапии (АРТ) частота возникновения злокачественных новообразований, ассоциированных с иммуносупрессией, уменьшилась, она все еще высока относительно общей популяции. В частности, у лиц, инфицированных ВИЧ-1, регистрируется высокая заболеваемость эпителиальными злокачественными новообразованиями, которая связана с коинфекцией онкогенными вирусами, такими как вирусы папилломы человека (ВПЧ). И, соответственно, инфекция, вызванная вирусом папилломы человека, в несколько раз чаще встречается у женщин, инфицированных ВИЧ, чем у ВИЧ-отрицательных женщин, что может свидетельствовать о коллаборации этих двух вирусов. Повышенный риск развития злокачественных новообразований, связанных с ВПЧ, по-видимому, возникает как на фоне иммуносупрессии, так и обусловлен целым рядом других факторов, в том числе активностью некоторых белков ВИЧ-1. Белки, кодируемые ВИЧ-1, остаются



в тканях и кровотоке у пациентов даже на фоне подавленной АРТ вирусемии в плазме крови, и, хотя эти белки не являются онкогенными по своей природе, они способны увеличивать вероятность трансформации клеток, инфицированных ВИЧ-1.

Диссертационная работа Аллы Сергеевны Житкевич посвящена актуальной проблеме - раскрытию механизмов сложного взаимодействия между белками ВИЧ-1 и вируса папилломы человека, приводящих к злокачественной трансформации эпителиальных клеток.

### **Связь с планами соответствующей отрасли науки**

Диссертационная работа А.С. Житкевич выполнена в соответствии с основными направлениями современных научных исследований.

### **Новизна полученных результатов и выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В диссертационной работе А.С. Житкевич впервые показано, что продукция обратной транскриптазы (RT) ВИЧ-1 в клетках аденокарциномы молочной железы мыши 4T1Luc2 оказывает влияние в большей степени на метаболический процесс клеток, связанный с митохондриальным дыханием, а не с процессом гликолиза.

Впервые продемонстрировано, что протеаза ВИЧ-1 оказывает влияние на изменение миграционной активности клеток аденокарциномы молочной железы мыши 4T1Luc2 как *in vitro*, так и *in vivo* благодаря своей ферментативной активности.

Впервые были получены производные ВПЧ16-положительной клеточной линии плоскоклеточного рака шейки матки человека Ca Ski, экспрессирующие обратную транскриптазу ВИЧ-1 штамма FSU\_A, что имеет существенное значение с практической точки зрения.

Исследованы механизмы, способствующие усилению туморогенного потенциала ВПЧ16+ клеток в присутствии белков ВИЧ-1. Полученные данные иллюстрируют сложные взаимодействия, возникающие в клетке при ко-инфекции ВИЧ-1 и ВПЧ16. Продемонстрировано, что экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 увеличивает уровень мРНК изоформы онкогена *E6\*I* ВПЧ16, склоняет клетки к гибриднему эпителиально-мезенхимальному фенотипу, усиливает гликолиз, но при этом подавляет митохондриальное дыхание. Показано, что высокий уровень экспрессии обратной транскриптазы ВИЧ-1 восстанавливает туморогенную активность опухолевых клеток, нарушенную при трансдукции данных клеток лентивирусом, кодирующим зеленый флуоресцентный белок.

### **Теоретическая и практическая значимость полученных автором результатов**

Представленные в диссертационной работе данные о механизме влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на метаболизм опухолевых клеток дают объяснение феномену ВИЧ-1-ассоциированного канцерогенеза, не связанного с иммунной супрессией.



Полученные в работе результаты подчёркивают сложные взаимодействия, возникающие в клетке при ко-инфекции ВИЧ-1 и ВПЧ16, и показывают, что обратная транскриптаза ВИЧ-1 способна влиять на индуцированный ВПЧ16 канцерогенез за счет модуляции экспрессии онкогена *E6*. Данные о механизмах канцерогенеза при ко-инфекции ВИЧ-1/ВПЧ16 могут быть использованы при разработке протоколов лечения.

Полученные производные ВПЧ-положительной клеточной линии плоскоклеточного рака шейки матки человека Ca Ski, экспрессирующие обратную транскриптазу ВИЧ-1, могут быть использованы в качестве модели для оценки эффективности противовирусных препаратов и комбинированных протоколов лечения при ко-инфекции ВИЧ/ВПЧ.

На основе анализа полученных данных автор диссертации формулирует ряд практических рекомендаций, связанных как с улучшением диагностики, так и с модификацией протоколов лечения лиц, с ко-инфекцией ВИЧ-1 и ВПЧ.

**Личный вклад автора** заключается в непосредственном участии в выполнении всех разделов данного исследования, а также в проведении анализа полученных данных и представлении результатов на конференциях и в научных публикациях.

#### **Степень достоверности и обоснованности представленных данных**

Достоверность и обоснованность представленных в диссертационной работе данных обусловлена достаточным числом исследований, комплексным подходом к проведению исследования, корректным выбором широкого спектра современных методических подходов, строгими условиями проведения опытов, адекватно подобранными клеточными культурами, а также методами параметрической и непараметрической статистической обработки полученных данных. Объем материала, использованный в исследовании, достаточен для получения достоверных результатов. Положения, выносимые на защиту, сформулированные автором, являются логически обоснованными, полученные данные сопоставлены с результатами других исследователей. Все выводы диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы.

#### **Апробация работы и публикации**

По теме диссертации опубликованы три научные публикации: две статьи в рецензируемых изданиях, индексируемых в международных библиографических базах данных (Web of Science, Scopus, PubMed), входящих в Q1-2 и одна статья в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК.

Материалы исследования были представлены и обсуждены автором на российских и международных конференциях: VII Петербургский международный онкофорум (Санкт-Петербург, Россия, 2021), «Rīga Stradiņš University Research Week 2021» (Рига, Латвия, 2021), III Объединенный научный форум физиологов,



биохимиков и молекулярных биологов (Сочи, Россия, 2022), 2 международная конференция «Cancer metastasis 2021», «Chronic viral infection and cancer, openings for vaccines 2021», «2022 ISV Annual Congress» - как в личных докладах, так и online формате.

### **Достоинства и недостатки содержания и оформления работы**

Диссертация написана в традиционном стиле, изложена на 143 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов, результатов исследований и обсуждения, общего заключения, выводов, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы, включающего 461 источник. Работа иллюстрирована тремя таблицами и 24 рисунками.

Во введении сформулирована цель работы, которая заключалась в исследовании механизмов влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения. Все запланированные задачи соответствовали цели исследования и были выполнены в полной мере.

В обзоре литературы подробно описаны строение, жизненный цикл и механизмы, лежащие в основе взаимодействия ВИЧ-1 с разными типами клеток хозяина. Особый акцент сделан на структуре и функционировании обратной транскриптазы и протеазы вируса, а также кратко освещаются некоторые особенности ингибиторов данных белков, как терапевтических средств против ВИЧ-1. Кроме того, приводятся актуальные данные о распространенности и характере злокачественных новообразований, ассоциированных с ВИЧ-1, возникающих, как правило, из-за потери иммунологического контроля над онкогенными вирусными инфекциями. Рассматриваются механизмы канцерогенеза при взаимодействии ВИЧ-1 с другими вирусными онкогенами. И наконец, описываются механизмы, посредством которых ВИЧ-1 может приводить к злокачественной трансформации как нормальных клеток, так и усиливать канцерогенез уже существующих злокачественных клеток, несмотря на десятилетия непрерывного применения АРТ. Фактически, данная работа представляет собой составную часть такого рода исследований.

Глава «Материалы и методы» дает достаточное представление о технической стороне работы, подробно описывает использованные в работе методики. Важным достоинством диссертационной работы является использование не только классических, но и современных молекулярно-биологических и вирусологических методов. Отдельно следует отметить применение современных методов параметрической и непараметрической статистической обработки для подтверждения достоверности полученных данных.

Глава «Результаты» состоит из трёх основных разделов, соответствующих положениям, выносимым на защиту и обосновывающих их. Все результаты



сопровождаются информативным материалом в графическом или табличном формате.

Обсуждение полученных результатов вынесено в отдельную главу, в которой полученные данные сопоставляются с результатами других исследователей.

В главе «Заключение» соискатель обобщает и анализирует результаты исследований, подтверждает важность и актуальность полученных данных.

Работа завершается выводами, которые демонстрируют достижение соискателем цели и поставленных в работе задач. Дополнительно приводятся предложения относительно возможных областей практического применения полученных данных и перспективах дальнейшей разработки темы.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология, а результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 4 и 6 паспорта специальности.

### **Общие замечания по диссертационной работе**

Следует подчеркнуть безупречную грамотность текста, опечаток практически не найдено. С литературной точки зрения, некоторые предложения излишне длинные и тяжеловесны, что несколько затрудняет восприятие. Кроме того, иногда используются термины, являющиеся прямой калькой с английского, такие как «аминотерминальный конец» или «внутриклеточный сигналинг».

Указанные недостатки носят чисто технический характер и не снижают научной значимости диссертационной работы.

Есть один дискуссионный вопрос.

В диссертации приводятся данные о том, что механизм действия обратной транскриптазы ВИЧ-1 в клетках аденокарциномы молочной железы мыши и ВПЧ-положительной клеточной линии плоскоклеточного рака шейки матки человека различается. Так в выводе №1 сказано, что обратная транскриптаза ВИЧ-1 в клетках аденокарциномы молочной железы мыши 4T1Luc2 приводит к усилению митохондриального дыхания и уровня продукции АТФ в клетках аденокарциномы молочной железы мыши 4T1Luc2, при этом не влияя на процесс гликолиза. В выводе №3 утверждается, что экспрессия обратной транскриптазы в клетках ВПЧ-положительной клеточной линии плоскоклеточного рака шейки матки человека Sa Ski усиливает гликолиз и ингибирует митохондриальное дыхание.

Чем автор может объяснить различие в механизмах действия обратной транскриптазы ВИЧ-1 в разных типах опухолевых клеток?

### **Заключение**

Диссертационная работа Житкевич Аллы Сергеевны на тему: «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на опухолевый потенциал клеток эпителиального происхождения», выполненная под руководством кандидата медицинских наук Гордейчука Ильи Владимировича, и представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10.



Вирусология, является законченным научно-квалификационным исследованием, посвященным актуальной научной проблеме изучения основных механизмов злокачественной трансформации клеток эукариот под действием белков ВИЧ-1, а также разработке подходов для ее решения, имеет большое практическое и теоретическое значение и может способствовать значительному продвижению в этой области.

Диссертация Житкевич Аллы Сергеевны 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 кандидата наук, а ее автор Житкевич Алла Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании Ученого совета ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол №16 от 28 ноября 2024 г.).

**Отзыв составил:**

ведущий научный сотрудник отдела биоинженерии  
ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора  
доктор биологических наук, доцент  
эл. почта karpenko@vector.nsc.ru  
телефон: +7 (383) 363-47-10

Карпенко Лариса Ивановна

Подпись д.б.н. Карпенко Л.И. заверяю.

И.о. ученого секретаря  
ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора



О.В. Прыткова

«29» 11 2024 г.

Федеральное бюджетное учреждения науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, <http://www.vector.nsc.ru>  
Адрес: 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, телефон: +7 (383) 363-47-10