

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Житкевич Аллы Сергеевны на тему: «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

### Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа А.С. Житкевич посвящена изучению крайне актуальной темы - поиску механизмов, посредством которых ВИЧ-1 может приводить к злокачественной трансформации, независимо от устойчивого подавления вирусии в плазме при соответствующей антиретровирусной терапии (АРТ).

Связь вирусов с развитием злокачественных новообразований человека — это установленный феномен, подкрепленный четкими доказательствами, которые показывают, что эти вирусы могут влиять на ключевые физиологические процессы, приводя к развитию и прогрессированию злокачественных новообразований. Длительная хроническая инфекция приводит к накоплению мутагенных событий, которые в конечном итоге приводят к развитию опухолей. Исследования клеточной трансформации вирусами и ассоциации вирусных белков с белками хозяина расширили наше понимание биологии злокачественных новообразований и, таким образом, стали ключевыми в этой области исследований. Поэтому необходимы постоянные усилия по определению роли вирусов в онкогенезе.

Хотя ВИЧ не классифицируется как онкогенный, люди, живущие с этим вирусом, подвергаются значительно более высокому риску развития определенных злокачественных новообразований. Хотя подавление иммунитета, вызванное вирусом, и дисфункция иммунной системы остаются основной причиной, сохранение злокачественности, несмотря на успешную антиретровирусную терапию, привело к детальному изучению механизмов, вызывающих ВИЧ-ассоциированные злокачественные новообразования.

ВИЧ и его вспомогательные белки могут напрямую способствовать канцерогенезу способом, аналогичным описанным для известных онкогенных вирусов. Возникающая концепция ВИЧ как онкогенного вируса подтверждается все более убедительными доказательствами. В данной работе проводится изучение

влияния отдельных вирусных белков ВИЧ, в частности обратная транскриптаза и протеаза, на канцерогенез в эпителиальных клетках, а также рассматриваются взаимодействия, возникающие в клетке при ко-инфекции ВИЧ-1 и ВПЧ16.

Детальное исследование механизмов, ответственных за развитие злокачественных новообразований у ВИЧ-инфицированных, позволит обеспечить более эффективную диагностику и лечение, поэтому тема диссертации А.С. Житкевич является крайне важной и актуальной.

### **Научная новизна полученных результатов и выводов**

При выполнении диссертационного исследования автором впервые получен ряд фундаментально значимых результатов, в частности в работе впервые продемонстрировано, что продукция обратной транскриптазы ВИЧ-1 в клетках аденокарциномы мыши приводила к усилению митохондриального дыхания, что было связано с перестройкой митохондриальной сети без влияния на процесс гликолиза. В ВПЧ16-положительной клеточной линии рака шейки матки человека экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 приводила к увеличению уровня мРНК изоформы *E6\*1* ВПЧ16, изменяя фенотип клеток на гибридный эпителиально-мезенхимальный, усиливала гликолиз и подавляла митохондриальное дыхание, что говорит о противоположном метаболическом эффекте. Впервые было продемонстрировано, что протеаза ВИЧ-1 изменяет миграционную активность клеток аденокарциномы *in vitro* и *in vivo*, что говорит о ее способности усиливать метастатическую активность опухолевых клеток.

### **Практическая значимость работы**

Полученные в ходе работы данные демонстрируют три механизма, способных привести к усилению канцерогенного потенциала злокачественных клеток под действием белков ВИЧ-1, обратной транскриптазы и протеазы, не зависимо от применения АРТ. Полученные данные могут послужить основой для введения рекомендаций по усилению скрининга и определению оптимальной частоты мониторинга злокачественных новообразований среди ВИЧ-инфицированных лиц, для своевременного выявления заболеваний и предотвращения рисков прогрессии. С этой целью автором рекомендовано проведение исследований по оценке влияния уровня циркулирующей в крови обратной транскриптазы на частоту выявления

злокачественных новообразований у пациентов, получающих эффективную АРТ.

В практические рекомендации также вошли предложения по оценке частоты метастазирования опухолей у пациентов с ВИЧ-1, получающих АРТ, включающую и не включающую ингибиторы протеазы ВИЧ-1, что может послужить основой для модификации протоколов лечения опухолей у ВИЧ-инфицированных лиц, и имеет не меньшую практическую значимость с учетом данных о способности ферментативно активной протеазы ВИЧ-1 усиливать метастатическую активность опухолевых клеток.

Полученные производные линии клеток Ca Ski могут быть использованы в качестве модели для оценки эффективности противовирусных препаратов и комбинированных протоколов лечения при ко-инфекции ВИЧ/ВПЧ.

#### **Степень обоснованности и достоверности представленных положений и выводов**

Диссертационное исследование выполнено на современном экспериментальном уровне. Достоверность полученных результатов определяется большим объемом проведенной экспериментальной работы, наличием технических и биологических повторов, комплексным подходом к проведению исследования, корректным выбором широкого спектра современных методических подходов, а также адекватно подобранными методами статистической обработки полученных данных. Выводы диссертации сформулированы в соответствии с полученными результатами и согласуются с поставленными при проведении исследования задачами. Результаты диссертационной работы Житкевич А.С. представлены в статьях, опубликованных в ведущих отечественных и международных научных изданиях. Материалы диссертации были представлены на российских и международных научных конференциях.

Проведенное исследование является оригинальным, завершенным в рамках поставленной цели и задач научно-квалификационным трудом, соответствует паспорту специальности 1.5.10. Вирусология.

#### **Содержание и структура диссертационной работы**

Диссертационная работа построена по классической схеме и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение,

заклучение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список использованных сокращений и список использованной литературы. Работа изложена на 143 страницах, иллюстрирована 24 рисунками и 3 таблицами. Список литературы включает 461 источник.

В разделе «Введение» в краткой форме изложены актуальность работы, цель и задачи исследования, научная новизна полученных результатов и их практическая значимость, положения, выносимые на защиту, и информация о публикациях и апробации результатов.

В обзоре литературы описаны основные молекулярно-биологические характеристики вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) и двух из трех ферментов, участвующих в репликации – обратной транскриптазы, и протеазы, выбранных в качестве объекта исследования в диссертационном исследовании. Рассматриваются механизмы повышенной частоты возникновения злокачественных новообразований среди ВИЧ-инфицированных, приведена подробная классификация СПИД-ассоциированных и не СПИД-ассоциированных злокачественных новообразований. Особое внимание уделено роли ВИЧ-1 белков в клеточной трансформации и опухолевой прогрессии, возможным механизмам проникновения ВИЧ-1 в эпителиальные клетки, а также молекулярным механизмам канцерогенеза при взаимодействии ВИЧ-1 с другими вирусными онкогенами, в частности ВПЧ16.

Обзор написан хорошим и понятным языком, содержит очень существенное количество источников.

Глава «Материалы и методы» содержит подробное описание реагентов и методов, использованных автором в работе. Приведено описание большого количества разнообразных методик. Выбранные подходы и методики соответствуют поставленным задачам.

Глава «Результаты» включает следующие разделы: Оценка влияния продукции обратной транскриптазы ВИЧ-1 на гликолиз и дыхательную активность митохондрий в клетках аденокарциномы мышечей. Влияние обратной транскриптазы ВИЧ-1 на характеристики клеток, содержащих интегрированный геном ВПЧ16. Оценка влияния экспрессии протеазы ВИЧ-1 на свойства клеток аденокарциномы мышечей *in vitro*.

Результаты представлены последовательно, полно проиллюстрированы, описаны и соответствуют полученным данным.

В главе «Обсуждение» автор дает критическую оценку полученным результатам настоящей работы, проводя сравнительный анализ с опубликованными исследованиями других научных групп. В «Заключении» кратко суммированы основные результаты работы.

#### **Замечания по диссертационной работе**

В пункте 3.1.2 представлены интереснейшие данные, касающиеся исследования митохондриального дыхания с использованием анализатора Seahorse. Полученные результаты свидетельствуют о значительном усилении максимального уровня дыхания и продукции АТФ в клетках, экспрессирующих обратную транскриптазу ВИЧ. Что касается базального дыхания и уровня утечки протонов, разница между исследованными культурами не так значительна. Интересно было бы уточнить воспроизводимость этих результатов при независимых биологических повторностях при разном количестве пассажей. То же замечание касается пункта 3.2.4 и оценки влияния экспрессии RT ВИЧ-1 на гликолиз на клетках Ca Ski.

При оценке уровня окислительного стресса (раздел 3.3.2.) интересно было бы исследовать уровень АФК путем окрашивания и другими красителями, например, дигидроэтидием (DHE). Это позволило бы дополнительно оценить концентрацию супероксид-аниона. Использование красителя MitoSOX позволило бы измерить уровень митохондриальных АФК.

Упомянутые замечания не снижают значимости исследования и не влияют на его положительную оценку.

#### **Заключение**

Таким образом, 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 и по актуальности, научной новизне, практической значимости результатов и объему проведенных исследований полностью соответствует требованиям пп. 9-14

«Положения о присуждении 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.), а ее автор Житкевич Алла Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

**Официальный оппонент:**

Старший научный сотрудник лаборатории  
пролиферации клеток, ФГБУН Институт молекулярной биологии  
им. В. А. Энгельгардта Российской академии наук,  
кандидат биологических наук,  
кандидат биологических наук  
e-mail: lipatovaanv@gmail.com  
тел: +79264981157

Липатова Анастасия Валерьевна

Подпись Липатовой А.В. заверяю.

Ученый секретарь ФГБУН Институт молекулярной биологии  
им. В. А. Энгельгардта Российской академии наук,  
канд. физ.-мат. наук

Коновалова Е.В.

«29» ноября 2024 г.



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук. Адрес: 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32. ИМБ РАН, тел. +7 (499) 135-23-11, +7 (926) 498 11 57, isinfo@eimb.ru, lipatovaanv@gmail.com, https://www.eimb.ru.