

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.255.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ИССЛЕДОВАНИЙ И РАЗРАБОТКИ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИМ. М.П. ЧУМАКОВА РАН» (ИНСТИТУТ ПОЛИОМИЕЛИТА) МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 20.12.2024 г. № 29

О присуждении Житкевич Алле Сергеевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения» по специальности 1.5.10. Вирусология принята к защите 18.10.2024 г. (Протокол заседания № 26) диссертационным советом 24.1.255.01, созданным на базе ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (108819, г. Москва, поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1), Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации о выдаче разрешения на создание диссертационного совета №188 от 10 марта 2021 г.

Соискатель Житкевич Алла Сергеевна – 08.04.1996 года рождения.

В 2018 году соискатель окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых», присвоена квалификация – бакалавр по направлению 06.03.01 - Биология. В 2020 году соискатель окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), присвоена квалификация – магистр 19.04.01 Биотехнология.

В 2024 году Житкевич А.С. окончила аспирантуру ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки» по специальности 03.02.02. Вирусология, работает в должности научного сотрудника 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 выполнена в 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).

**Научный руководитель** – Гордейчук Илья Владимирович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян Федерального государственного автономного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

**Официальные оппоненты:**

Бобкова Марина Ридовна – доктор биологических наук, главный специалист лаборатории биологии лентивирусов отдела вирусологии им. О.Г. Анджaparидзе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

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.

Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** – Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, (р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия), в своем положительном отзыве, подписанном Карпенко Ларисой Ивановной, доктором биологических наук, доцентом, ведущим научным сотрудником отдела биоинженерии, указала на то, что диссертация Житкевич Аллы Сергеевны на тему: «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения», 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. 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 *Е6*. Данные о механизмах канцерогенеза при ко-инфекции ВИЧ-1/ВПЧ16 могут быть использованы при разработке протоколов лечения. Диссертация Житкевич Аллы Сергеевны на тему: «Механизмы влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на опухолевый потенциал клеток эпителиального происхождения» 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.), а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 3 работы, из них 1 работа в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК, 2 работы в зарубежных журналах, индексируемых в международных системах Web of Science, Scopus, PubMed.

Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. Закирова Н.Ф. Экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 вызывает усиление дыхательной активности митохондрий в клетках аденокарциномы мышей / Н.Ф. Закирова, **А.С. Кондрашова**, М.В. Голиков [и др.] // Молекулярная биология. – 2022. – Т. 56. – № 5. – С. 795-807. DOI: 10.31857/S0026898422050160. (Scopus, Springer, Pub Med, RSCI, ВАК, K2).

2. **Zhitkevich, A.** HIV-1 Reverse Transcriptase Expression in HPV16-Infected Epidermoid Carcinoma Cells Alters E6 Expression and Cellular Metabolism, and Induces a Hybrid Epithelial/Mesenchymal Cell Phenotype / **A. Zhitkevich**, E. Bayurova, D. Avdoshina [et al.] // Viruses. – 2024. – Vol. 16. – № 2. – P. 193. DOI: 10.3390/v16020193. Correction: Viruses. – 2024. – Vol. 16. – P. 589. DOI: 10.3390/v16040589. (Web of Science, Scopus, Pub Med, Q2).

3. Isaguliant, M. Enzymatic activity of HIV-1 protease defines migration of tumor cells *in vitro* and enhances their metastatic activity *in vivo* / M. Isaguliant, A. Zhitkevich, S. Petkov [et al.] // Biochimie. – 2024. – DOI:10.1016/j.biochi.2024.08.009 [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300908424001950>] (Web of Science, Scopus, Pub Med, Q1).

В опубликованных работах приведены результаты экспериментов по изучению роли индуцируемого обратной транскриптазой ВИЧ-1 увеличения продукции АФК в усилении туморогенного и метастатического потенциала клеток аденокарциномы молочной железы *in vitro* и *in vivo*, а именно, влиянию обратной транскриптазы ВИЧ-1 на ключевые метаболические пути, связанные с опухолевой прогрессией: гликолиз и митохондриальное дыхание. Описано создание производных линий плоскоклеточного рака шейки матки человека Ca Ski с интегрированным геномом ВПЧ16, стабильно продуцирующих обратную транскриптазу ВИЧ-1. Оценены фенотипические характеристики, метаболическая активность и характер экспрессии генов в полученных производных линии Ca Ski, стабильно продуцирующих обратную транскриптазу ВИЧ-1. Продемонстрировано, что экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 увеличивает уровень мРНК изоформы *E6\*I* ВПЧ16, склоняет клетки к гибриднему эпителиально-мезенхимальному фенотипу, усиливает гликолиз и подавляет митохондриальное дыхание. Доказана роль ферментативной активности протеазы ВИЧ-1 в миграционной активности клеток аденокарциномы.

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, отсутствуют. Авторский вклад в опубликованных работах соискателя составляет около 90,84%.

На автореферат диссертации поступили положительные отзывы:

1. Спирина Павла Владимировича - кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний ФГБУН «Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН».

2. Винокуровой Светланы Владимировны - кандидата биологических наук, заведующего лабораторией молекулярной биологии вирусов ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

3. Баклаушева Владимира Павловича - доктора медицинских наук, заведующего отделом разработки клеточных препаратов ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России».

4. Масаловой Ольги Владимировны - доктора биологических наук, заведующей лабораторией клеточной инженерии «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

5. Петрова Александра Анатольевича - доктора медицинских наук, начальника научно-исследовательского управления и Плехановой Тамары Михайловны, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника научно-исследовательского управления ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны России.

В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования показано, что механизмом индуцируемого обратной транскриптазой ВИЧ-1 увеличения продукции АФК является усиление митохондриального дыхания, связанного с перестройкой митохондриальной сети. Описаны сложные взаимодействия, возникающие при ко-инфекции ВИЧ-1 и вирусов папиллом человека высокого канцерогенного риска, таких как ВПЧ типа 16. Показано, что экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 в ВПЧ16-положительных цервикальных клеточных линиях Ca Ski повышает уровень мРНК изоформы *E6\*1* ВПЧ16, влияет на их клоногенную активность и канцерогенный потенциал, а также влияет на метаболические пути в опухолевых клетках. Впервые показано, что протеаза ВИЧ-1 изменяет миграционную активность клеток аденокарциномы *in vitro* и *in vivo*, что связано с ее ферментативной активностью. Отмечается логичность выполнения работы и ее изложения в автореферате. Достоверность представленного фактического материала базируется на комплексе современных вирусологических, молекулярно-генетических и биохимических методов, методов работы с лабораторными животными. Анализ полученных данных проведен адекватно подобранным методам статистики.

Критических замечаний в отзывах нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью в вопросах рассмотренной диссертации, большим опытом работы в изучении различных вопросов вирусологии, известностью специалистов в области изучаемой проблемы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**разработана** панель производных клеточной линии плоскоклеточного рака шейки матки человека Ca Ski с интегрированным геномом ВПЧ16, продуцирующих обратную транскриптазу ВИЧ-1, которые могут быть использованы в качестве модели для оценки эффективности противовирусных

препаратов и комбинированных протоколов лечения при ко-инфекции ВИЧ/ВПЧ;

**предложена** стратегия отделения эффектов неспецифического воздействия вирусной трансдукции на свойства ВПЧ16-положительной клеточной линии Ca Ski, продуцирующей обратную транскриптазу ВИЧ-1 путем создания контрольных клеток, экспрессирующих зеленый флуоресцентный белок. Стратегия позволяет оценить масштабы неспецифического воздействия и выявить специфический эффект обратной транскриптазы ВИЧ-1.

**доказано**, что механизмом индуцируемого обратной транскриптазой ВИЧ-1 увеличения продукции активных форм кислорода, приводящего к усилению туморогенного и метастатического потенциала клеток аденокарциномы молочной железы *in vitro* и *in vivo*, является усиление митохондриального дыхания, связанного с перестройкой митохондриальной сети;

**введен** комплекс методик, позволяющий охарактеризовать изменения в ключевых метаболических путях, связанных с опухолевой прогрессией: гликолиз и митохондриальное дыхание.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

**доказано**, что в ВПЧ16-положительной клеточной линии Ca Ski экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 увеличивает уровень мРНК изоформы *E6\*1* ВПЧ16;

**применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс существующих *in vitro* методов исследования туморогенного и метастатического потенциала на моделях клеточных линий;

**изложены** факты, подтверждающие, что в ВПЧ16-положительной клеточной линии Ca Ski экспрессия обратной транскриптазы ВИЧ-1 склоняет клетки к гибриднему эпителиально-мезенхимальному фенотипу, усиливает гликолиз и подавляет митохондриальное дыхание;

**раскрыт** механизм, по которому ферментативная активность протеазы ВИЧ-1 влияет на миграционную активность клеток аденокарциномы *in vitro* и *in vivo*;

**изучено** свойство обратных транскриптаз ВИЧ-1 усиливать экспрессию *E6* ВПЧ16 в клеточной линии Ca Ski, не влияя на экспрессию *E7* ВПЧ16.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

**разработан и введен в практику** работы лаборатории моделирования иммунобиологических процессов с экспериментальной клиникой игрунковых обезьян ФГАНУ «ФНЦИРИП им М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) перечень *in vitro* методов для оценки туморогенного и

метастатического потенциала получаемых клеточных культур, позволяющий предопределить поведение клеточных культур *in vivo*;

**определены** практические рекомендации по оценке влияния уровня циркулирующей в крови обратной транскриптазы на частоту выявления злокачественных новообразований у пациентов, получающих эффективную антиретровирусную терапию, с целью определения оптимальной частоты мониторинга опухолей;

**представлены** практические рекомендации, включающие оценку частоты метастазирования опухолей у пациентов с ВИЧ-1, получающих антиретровирусную терапию, включающую и не включающую ингибиторы протеазы ВИЧ-1, с целью модификации протоколов лечения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

**в ходе выполнения экспериментальной работы** накоплен достаточный объем фактического материала, необходимого для получения достоверных результатов. Методы статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне;

**теория** исследования построена на известных проверенных данных и согласуется с опубликованными работами по теме диссертации;

**идея** базируется на анализе теоретических и практических данных отечественных и зарубежных ученых в области изучения влияния вирусных белков на онкогенные характеристики клеток;

**использовано** сравнение авторских данных с данными, полученными в отношении влияния других белков ВИЧ-1 на онкогенный потенциал эпителиальных клеток;

**установлено**, что выявленные в работе свойства белков ВИЧ-1, такие как влияние на метаболизм клеток, подвижность, окислительно-восстановительный баланс и прямой канцерогенный потенциал, могут быть присущи ряду белков ВИЧ, что представлено в независимых источниках других авторов.

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. Автором

сформулированы основные положения и выводы диссертации. С участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования в рецензируемых научных изданиях, одобренных ВАК. Все выводы диссертации и положения, выносимые на защиту, логично выстроены на основе полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было.

Соискатель Житкевич А.С. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На заседании 20 декабря 2024 г. диссертационный совет принял решение: за успешное решение научной задачи по изучению механизмов влияния обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1 на туморогенный потенциал клеток эпителиального происхождения, имеющее существенное значение для развития биологической науки и, в частности, вирусологии, присудить Житкевич А.С. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 15 докторов наук по специальности 1.5.10. Вирусология, участвовавших в заседании из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 16, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Заместитель председателя  
диссертационного совета 24.1.255.01  
профессор, доктор медицинских наук

  
Ткаченко Евгений Александрович

Ученый секретарь  
диссертационного совета 24.1.255.01  
кандидат биологических наук

  
Белякова Алла Владимировна

  
«20» декабря 2024 г.