ОТЗЫВ

доктора биологических наук Шлеевой Маргариты Олеговны на автореферат диссертации Назаренко Алины Сергеевны на тему: «Онколитический потенциал некоторых арбовирусов на моделях опухолей поджелудочной железы и глиобластомы», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Диссертационная работа А.С. Назаренко посвящена актуальной проблеме современной онкологии и вирусологии - поиску и изучению новых онколитических вирусных агентов для терапии крайне агрессивных и трудно поддающихся лечению новообразований: протоковой аденокарциномы поджелудочной железы (PDAC) и глиобластомы. Актуальность обусловлена высокой медицинской и научной значимостью проблемы: несмотря на определённые успехи онколитической виротерапии и регистрацию препарата Teserpaturev (G47Δ) на основе вируса простого герпеса 1 типа для терапии глиобластомы, клинические данные демонстрируют принципиальные ограничения монотерапии - гетерогенность опухолей и быструю вирусную элиминацию, не позволяющие достичь устойчивого полного ответа при агрессивных солидных опухолях. Это требует как расширения панели вирусов-кандидатов, так и разработки комбинированных подходов. В этом контексте обращение автора к малоизученным в онколитическом плане представителям семейства *Flaviviridae* (вирусу желтой лихорадки, штамм 17D, и вирусу клещевого энцефалита, штамм Софьин), а также к синергии вируса везикулярного стоматита (ВВС) с фотодинамической терапией (ФДТ) представляется своевременным и обоснованным.

Работа обладает несомненной научной новизной. Впервые проведён масштабный сравнительный скрининг онколитической активности вакцинного штамма 17D ВЖЛ и штамма Софьин ВКЭ на широкой панели опухолевых клеточных линий различной этиологии. Автором убедительно продемонстрирован высокий онколитический потенциал ВЖЛ в отношении опухолей толстой кишки, молочной железы, легкого, нейробластомы, астроцитомы и PDAC. Важным фундаментальным

результатом является выявление резистентности клеточных линий глиобластомы человека к обоим флавивирусам, а также феномен активной репродукции ВКЭ без выраженного цитопатического действия, что открывает новые горизонты для понимания механизмов вирусного онколиза.

Особого внимания заслуживает *in vivo* часть исследования. На сингенной модели Pan02 в иммунокомпетентных мышах впервые показано, что внутриопухолевое введение штамма 17D ВЖЛ приводит к замедлению роста опухоли и увеличению выживаемости животных. Выбор модели методически обоснован: сингенная система позволяет оценивать вклад адаптивного иммунного ответа в общий противоопухолевый эффект. Выдвинутая и аргументированная гипотеза об иммуноопосредованном характере этого эффекта имеет важное теоретическое и прикладное значение. Весьма ценна внутренняя логика доказательной базы: отсутствие прямого литического действия вируса на культуру Pan02 *in vitro* при наличии противоопухолевого эффекта *in vivo* закономерно приводит к гипотезе об иммуноопосредованном механизме, а отрицательные результаты ПЦР-исследования опухолевой ткани и сыворотки крови на присутствие вирусной РНК подкрепляют представление о быстрой элиминации вируса и, следовательно, о вторичном, иммунном характере наблюдаемого эффекта. У иммунизированных мышей эффект виротерапии был отчётливее: выявлена умеренная мононуклеарная инфильтрация паратуморальной зоны, очаги некроза и апоптоза атипичных клеток, тогда как у неиммунизированных животных отмечена активная пролиферация клеток и отсутствие инфильтрации паратуморальной зоны иммунными клетками.

Вторая часть работы, посвящённая комбинированной терапии ВВС и ФДТ на основе протопорфирина IX, также содержит элементы новизны. Автором впервые получен комплекс ВВС–протопорфирин IX и показана его ограниченная эффективность из-за ингибирующего действия фотосенсибилизатора на вирусную репродукцию. Однако разработанный протокол последовательного введения

препаратов с интервалом в 24 часа позволил преодолеть это ограничение и существенно усилить цитотоксический эффект в отношении клеточных линий и 3D-сфероидов глиобластомы. Это решение представляет собой рациональный методический подход с прямым практическим значением.

Степень достоверности работы не вызывает сомнений. Исследование выполнено на современном методическом уровне с использованием широкого спектра вирусологических, молекулярно-биологических, гистологических и статистических методов (МТТ-тест, xCELLigence, ПЦР-РВ, анализ БОЕ, конфокальная микроскопия, гистология, *in vivo* модели); результаты прошли адекватную статистическую обработку. Выводы и положения, выносимые на защиту, логично вытекают из полученных данных и полностью соответствуют поставленным задачам.

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению автореферата нет. В качестве дискуссионного вопроса хотелось бы уточнить: в экспериментах на 3D-сфероидах T98G и LN-229 автором показано, что ФДТ в монорежиме не способна проникать вглубь сфероида, а комбинация с ВВС приводит к полной гибели клеток. Как автор объясняет, за счёт чего именно совместное применение преодолевает это ограничение: за счёт того, что ВВС, реплицируясь в поверхностных клетках, разрушает структуру сфероида и «открывает» доступ для фотосенсибилизатора, или за счёт того, что ФДТ повреждает поверхностный слой, облегчая проникновение вируса?

Заключение: учитывая актуальность, научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования, диссертационная работа Назаренко Алины Сергеевны на тему: «Онколитический потенциал некоторых арбовирусов на моделях опухолей поджелудочной железы и глиобластомы», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, является законченной научно-квалификационной работой, которая соответствует

требованиям пп. 9–14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 N 723, от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168, от 20.03.2021 N 426, от 11.09.2021 N 1539, от 26.09.2022 N 1690, от 26.01.2023 N 101, от 18.03.2023 N 415, от 26.10.2023 N 1786, от 25.01.2024 N 62, от 16.10.2024 №1382, от 18.07.2026 №905 ред. от 18.07.2026 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Назаренко Алина Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России №1 от 09.01.2020 г. (ред. от 01.03.2024), необходимых для работы диссертационного совета 24.1.255.01

Отзыв составил:
Заведующий лабораторией биохимии стрессов микроорганизмов
Федерального исследовательского центра
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук,
(ФИЦ Биотехнологии РАН),
доктор биологических наук,

Шлеева Маргарита Олеговна _____

Ленинский проспект, 33, стр.2, г. Москва, 119071,
тел.: (495)9544047, email: mshleeva@inbi.ras.ru

Подпись д.б.н. Шлеевой М.О. заверяю:
Ученый секретарь ФИЦ Биотехнологии РАН
кандидат биологических наук

Орловский А.Ф. _____

«28» октября 2026 г.