ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

кандидата биологических наук Липатовой Анастасии Валерьевны на диссертационную работу Назаренко Алины Сергеевны на тему: «Онколитический потенциал некоторых арбовирусов на моделях опухолей поджелудочной железы и глиобластомы», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность диссертационного исследования.

Онкологические заболевания остаются одной из основных причин инвалидизации и смертности населения, а возраст первично диагностируемых пациентов с каждым годом снижается. Резистентный к конвенциональным методам терапии метастатический рак остается камнем преткновения современной медицины, несмотря на интенсивную разработку и внедрение новых классов биопрепаратов. Данная диссертация представляет собой комплексное экспериментальное исследование, посвященное весьма актуальной и активно развивающейся области онкологии — онколитической виротерапии. В работе рассматриваются два наиболее устойчивых к терапии и смертельных вида злокачественных новообразований: протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (PDAC) с 5-летней выживаемостью около 10% и глиобластома, при которой только 5% пациентов переживают пятилетний рубеж. PDAC характеризуется иммуносупрессивным опухолевым микроокружением, что делает традиционную иммунотерапию в значительной степени неэффективной, при этом онколитические вирусы способны превращать "холодные" опухоли в иммунологически "горячие" посредством высвобождения DAMP/PAMP и привлечения иммунных клеток. Работа выполнена на стыке вирусологии и онкологии, включает в себя также и исследование фотодинамической терапии (ФДТ) в качестве эффективного дополнения к биотерапии онколитическими штаммами. Диссертация Алины Сергеевны вносит существенный вклад в область онколитической

виротерапии арбовирусами - сравнительно малоизученным классом онколитических агентов.

Научная новизна

В работе проведена первая систематическая сравнительная оценка онколитической активности штамма 17D вируса желтой лихорадки (YFV) и штамма Софьин вируса клещевого энцефалита (TBEV) на широком спектре опухолевых линий человека и мыши, сопоставленная с оценкой активности установленных эталонных онколитических вирусов (вирус везикулярного стоматита, штамм Индиана, VSV) и вакцинного штамма полиовируса 1 типа (штамм Сэбина). Ни в одном из предыдущих исследований эти четыре вируса не были включены в одну тестируемую панель на опухолевых линиях аденокарциномы молочной железы, легких и толстой кишки, глиобластомы, нейробластомы, астроцитомы. Это исследование заполняет критический пробел: в то время как онколитические свойства других флавивирусов (Зика, Западного Нила, денге) были охарактеризованы в разной степени, YFV 17D и TBEV Софьин оставались практически не охарактеризованными в этом контексте до этой работы.

Концептуально значимым открытием также является то, что TBEV Софьин активно реплицируется практически во всех протестированных опухолевых линиях, но не способен лизировать большинство из них. Это несоответствие между способностью вируса к репликации и онколитической эффективностью является новым для флавивирусов и имеет важное значение для понимания молекулярных детерминант лизиса опухоли. В работе впервые установлено, что YFV 17D размножается в линиях клеток PDAC человека (MiaPaCa-2, PANC-1, Capan-2) и эффективно их лизирует или ингибирует их пролиферацию. Также продемонстрирована противоопухолевая активность YFV 17D *in vivo* на иммунокомпетентной животной модели PDAC, что является наиболее впечатляющей находкой данного диссертационного исследования. Предварительная иммунизация вакцинным штаммом

значительно увеличивает среднюю выживаемость животных, превосходя по эффективности протоколы однократного и многократного введения, это указывает на существование ранее не изученного онколитического механизма, обусловленного иммунологической памятью. Это особенно актуализирует данную работу, учитывая недавние клинические данные о том, что пациенты с уже существующими антителами против вводимых вирусов демонстрируют значительно больший ответ при применении онколитической виротерапии.

Впервые описан биологически активный комплекс онколитического вируса и химически активированного фотосенсибилизатора на его поверхности, при этом вирус сохраняет инфекционность после образования комплекса с малыми молекулами, что создает концептуальную платформу для разработки «вооруженных» онколитических вирусов, несущих «негенетическую» полезную нагрузку.

Теоретическая и практическая значимость работы

Данная диссертационная работа способствует фундаментальному пониманию взаимодействия арбовирусов с опухолевыми клетками. Онкоселективность и онколизис не равнозначны - это наблюдение имеет значение для всего класса РНК-содержащих вирусов, используемых в онколитической терапии. Результаты *in vivo* подтверждают гипотезу о том, что YFV 17D действует в основном через иммуноопосредованные механизмы (модуляция микроокружения опухоли и рекрутирование иммунных клеток), а не только за счет прямого цитолитического действия. Эксперименты с VSV-комплексами способствуют развитию направления вироиммунофармакологии, когда вирусные частицы могут служить в качестве средств адресной доставки низкомолекулярных терапевтических препаратов в опухолевую ткань.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа выполнена с применением стандартных, широко используемых методов и программного обеспечения. Достоверность результатов диссертации обеспечена применением комплекса взаимодополняющих методов и адекватным статистическим анализом. По материалам диссертационной работы опубликованы 4 научные работы в журналах, индексируемых Web of Science и Scopus, а кроме этого результаты представлены на 9 всероссийских и международных конференциях.

Научная специальность, которой соответствует диссертация

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.10. Вирусология. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 3 «Исследование морфологии и морфогенеза вирусов, особенностей репродукции вирусов и их взаимоотношений с восприимчивыми к вирусам клеткам. Стратегия вирусного генома», 5 «Проблемы генной инженерии, использования вирусов как векторов для доставки ксеногенного и дополнительного генетического материала в восприимчивую клетку. Вирусы как инструмент генной терапии. Создание химерных вирусных частиц с заданными свойствами» и 6 «Проблемы патогенности вирусов, цитопатологии инфицированных вирусом клеток и тканей, изучение патогенеза вирусных инфекций, путей проникновения вируса в организм и распространения вирусов в организме» паспорта специальности 1.5.10. Вирусология.

Содержание и оформление диссертации

Диссертационная работа содержит 190 страниц машинописного текста и построена по стандартной схеме, включая главы «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение» и разделы «Введение», «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации» и «Перспективы дальнейшей разработки темы». В работе также присутствует оглавление,

список литературы (214 источников), список сокращений и приложение. В работе присутствует 67 рисунков и 4 таблицы.

Во введении автор приводит информацию об актуальности и степени разработки данной проблемы, формулирует цель и задачи исследования, обосновывает новизну, описывает теоретическую и практическую значимость работы и методологию исследования, формулирует положения, выносимые на защиту. Кроме того, приведены данные о структуре диссертации, публикациях, соответствии диссертации паспорту научной специальности и апробации результатов.

Обзор литературы содержит информацию о таксономии, молекулярной биологии и онколитических свойствах флавивирусов, рабдовирусов и пикорнавирусов. Отдельные подглавы обзора подробно описывают характеристики использованных опухолевых моделей.

В главе «Материалы и методы» описаны методы и протоколы, применяемые в работе. Подробно описаны методики оценки онколитической активности различных вирусных штаммов и система мониторинга клеточной пролиферации.

В главе 3 представлены полученные автором результаты и дана их оценка в контексте современного состояния знаний по теме. Была протестирована широкая группа линий опухолевых клеток и продемонстрирован широкий тропизм YFV 17D в отношении карцином человека, но не в отношении глиобластомы, что является важным отрицательным результатом, который определяет границы применимости штамма. Было обнаружено, что чувствительность линий PDAC к YFV 17D потенциально коррелирует с их «интерфероновым» статусом, как и в случае с чувствительностью к VSV. Эти результаты обеспечивают механистическую основу для прогнозирования терапевтической реакции на основе профилирования экспрессии отдельных генов системы индукции интерферона и интерферонового ответа. На мышах C57BL/6 с подкожными ксенографтами Pan02 были протестированы три различных терапевтических подхода:

однократная внутриопухолевая инъекция, предварительная иммунизация вирусом с последующей внутриопухолевой инъекцией и многократные внутриопухолевые инъекции. Важным практическим результатом является то, что штамм 17D уже является лицензированной вакциной, используемой во всем мире, что существенно упрощает нормативные и клинические процедуры для его применения для внутриопухолевой иммунотерапии. Были проанализированы титры нейтрализующих антител и гематологические показатели, что придает дополнительную значимость *in vivo* исследованиям в данной работе. Был успешно синтезирован новый комплекс BBC-протопорфирин IX, демонстрирующий способность VSV образовывать комплексы с небольшими молекулами, сохраняя при этом инфекционную способность, несмотря на ограниченную терапевтическую эффективность. Продемонстрирована синергия между ФДТ и онколитической виротерапией, при которой наблюдается усиление противоопухолевых эффектов.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат соответствует установленным требованиям, демонстрирует стройную логику решения исследовательских задач и полноценно раскрывает ключевые положения, представленные к защите.

Замечания:

1. На страницах 127 и 133 указано, что отек после терапии вирусами был причиной раннего выведения мышей из эксперимента. Отек часто приводит к системным проблемам измерения размера опухоли. Использование опухолевых моделей с биолюминисцентным репортером и измерение сигнала хотя бы в отдельные дни измерений дополнительно уточнило бы данные о противоопухолевой эффективности терапии.
2. На странице 54 автор пишет о «первичной» и «вторичной» глиобластоме и приписывает мутации IDH1 «вторичной глиобластоме». По ВОЗ 2021 (CNS5) такая классификация больше не используется: глиобластома — это

только IDH-дикий тип; IDH-мутантные опухоли называются «астроцитомы, IDH-мутантные».

3. Также в тексте присутствует некоторое количество опечаток: «подвергшимся эвтаназии» (с. 130); «у мышей, подвергшейся эвтаназии на 24 сутки», «среди одной из проблем» (с. 139).

Указанные замечания носят преимущественно редакционно-методический характер и не затрагивают существа выполненного исследования, его научной новизны и практической значимости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация А.С. Назаренко представляет собой хорошо продуманное и тщательно выполненное исследование, которое вносит оригинальный вклад в область онколитической виротерапии. В работе показано, что YFV 17D является перспективным онколитическим средством при PDAC и нескольких других типах опухолей, представлены данные, подтверждающие его противоопухолевую активность *in vivo* у иммунокомпетентных животных, определен иммуноопосредованный механизм действия и продемонстрирована значимая синергия между VSV и фотодинамической терапией на модели глиобластомы. Отсутствие данных о комбинации ФДТ *in vivo* является отличным поводом продолжить заявленные автором исследования и не уменьшает значимости этой прекрасной работы.

Обоснованность положений, выносимых на защиту, научных выводов, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна не вызывает сомнений. Указанные выше замечания не умаляют значимости диссертационного исследования.

Таким образом, диссертационная работа Назаренко Алины Сергеевны на тему: «Онколитический потенциал некоторых арбовирусов на моделях опухолей поджелудочной железы и глиобластомы» отвечает требованиям пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства 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 N426, 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 N 1382, от 18.07.2026 N 905), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой 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 г.), необходимых для работы диссертационного совета 24.1.255.01.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник
лаборатории пролиферации клеток
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Институт
молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта
Российской академии наук,
кандидат биологических наук
e-mail: lipatovaanv@gmail.com
тел.+7 (499)-135-23-11

Липатова Анастасия Валерьевна

Подпись к.б.н. Липатовой А.В. заверяю.

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

Коновалова Е.В.

«9» ноября 2026