«УТВЕРЖДАЮ»
Директор федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
академик РАН, доктор биологических наук
_____ Логунов Д.Ю.
«16» октября 2026 г

ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертацию Назаренко Алины Сергеевны на тему: «Онколитический потенциал некоторых арбовирусов на моделях опухолей поджелудочной железы и глиобластомы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность избранной темы

Аденокарцинома протоков поджелудочной железы (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) характеризуется скрытым течением, ранним метастазированием и выраженным десмопластическим стромальным барьером, препятствующим проникновению стандартных химиопрепаратов, а глиобластома является наиболее частой и агрессивной первичной опухолью головного мозга. Одним из факторов неблагоприятного прогноза для пациентов с PDAC и глиобластомой является их высокая иммуносупрессия. Онколитические вирусы (ОВ) представляют собой перспективный класс противоопухолевых средств благодаря двойному механизму действия: способности селективно инфицировать и лизировать опухолевые клетки и модулировать микроокружение опухоли, способствуя активации противоопухолевого иммунитета. Для лечения глиобластомы существует зарегистрированный в Японии препарат Teserpaturev на основе вируса простого герпеса первого типа. Кроме того, аденовирусы, полиовирусы, энтеровирусы, вирус везикулярного стоматита (ВВС) и другие вирусы проходят доклинические и различные стадии клинических исследований. Выбор арбовирусов в качестве онколитических агентов обусловлен их биологическими свойствами: некоторые арбовирусы обладают природным сродством к клеткам-предшественникам

нейронов и стволовым клеткам глиобластомы; арбовирусы способны вызывать быструю гибель инфицированных клеток, что важно для преодоления плотной архитектуры опухолей поджелудочной железы; в отличие от аденовирусов или вирусов герпеса, популяция людей редко сталкивается с рядом специфических арбовирусов, что нивелирует наличие предсуществующего иммунитета.

Несмотря на определенный успех применения ОВ в качестве монотерапии, они не способны привести к полному излечению пациента. Сочетание комбинации онколитической виротерапии с традиционными и новыми методами лечения может значительно усиливать противоопухолевые эффекты по сравнению с монотерапией одним из методов.

В этом контексте диссертационное исследование Назаренко Алины Сергеевны, посвященное оценке возможности использования некоторых арбовирусов в качестве онколитических вирусов на моделях опухолей поджелудочной железы и глиобластомы, и изучение онколитических свойств вируса везикулярного стоматита с фотодинамической терапией представляет собой интересную фундаментальную задачу.

Степень обоснованности и достоверность каждого из полученных научных положений и выводов, рекомендаций и заключений, сформулированных в диссертации

Обоснованность научных положений и выводов диссертационного исследования базируется на глубоком теоретическом анализе фундаментальных работ в области онколитической виротерапии и молекулярной онкологии, конкретном определении цели и задач исследования, а также использовании комплексного методологического подхода, адекватного поставленным целям.

Выбор клеточных линий (нейробластома Kelly, нейробластома SH-SY5Y, карцинома легкого A549, аденокарцинома молочной железы MCF7, аденокарцинома молочной железы MDA-MB-231, карцинома толстой кишки HCT-116, аденокарцинома толстой кишки SW620, аденокарциномы протоков поджелудочной железы (PANC-1, MIAPaCa-2, Capan-2)), а также проведение исследований на специфических моделях (*in vitro* 3D-сфероиды) соответствует принятым стандартам доклинических исследований онколитических препаратов.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием репрезентативного объема экспериментального материала (изучено два штамма арбовируса, проведены исследования на более чем 10 различных клеточных линиях, включая перевиваемые культуры из послеоперационного материала, 3D-тканевые сфероиды, а также на лабораторных животных). Все исследования выполнены с применением современного научного оборудования и современных молекулярно-биологических, вирусологических, гистологических и клинико-лабораторных методов, что исключает системные ошибки измерения.

Научные положения и выводы базируются на статистическом анализе. Первичные данные обрабатывались с помощью пакетов программы GraphPad Prism 8.0. Для сравнения групп применялись t-критерий Стьюдента, критерий и дисперсионный анализ ANOVA. Анализ выживаемости животных проводился методом Каплана-Майера. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Сформулированные выводы логичны, взаимосвязаны и строго обоснованы результатами статистического анализа, что подтверждает их воспроизводимость.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

Научная новизна исследования заключается в следующем:

– впервые проведена оценка чувствительности опухолевых клеточных линий к вирусу желтой лихорадки (ВЖЛ) штамма 17D и штамму Софьин вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) в сравнении с другими широко известными ОВ (штамм Индиана ВВС и штамм Сэбина полиовируса 1 типа). Было установлено, что большинство исследуемых клеточных линий оказались не чувствительны или слабо чувствительны к ВКЭ, несмотря на способность вируса к репродукции в исследуемых опухолевых культурах;

– впервые продемонстрировано, что ВЖЛ проявлял онколитическую активность на широкой панели человеческих опухолевых клеток, включая клеточные культуры опухолей толстой кишки (HCT-116 и SW620), молочной железы (MCF7, MDA-MB-231), аденокарциномы легкого (A549), PDAC (MIAPaCa-2, PANC-1), нейробластомы (Kelly, SH-SY5Y) и астроцитомы (полученной из послеоперационного материала);

– впервые установлено, что ВЖЛ (штамм 17D) способен к репродукции, эффективному лизису или ингибированию роста опухолевых клеточных линий PDAC человека (MIAPaCa-2, PANC-1, Capan-2);

– в эксперименте на мышиной клеточной линии аденокарциномы поджелудочной железы Pan02 показано, что ВЖЛ способен к проникновению с последующей репродукцией в исследуемой культуре, а также к ингибированию ее роста без видимого лизиса;

– в части решения вопросов доклинической эффективности на сингенной модели Pan02 впервые показано, что ВЖЛ (штамм 17D) обладает противоопухолевой активностью *in vivo*, где виротерапия иммунизированных мышей приводила к значительному увеличению медианы выживаемости;

– впервые исследована комбинированная терапия штаммом Индиана ВВС и фотодинамической терапией. Получен уникальный комплекс ВВС-протопорфирин IX, содержащий фотосенсибилизатор на поверхности ВВС, который продемонстрировал слабую онколитическую активность из-за ингибирующего действия фотосенсибилизатора на вирусную репродукцию.

Исходя из этого, был разработан протокол, предполагающий не одновременное, а последовательное введение фотосенсибилизатора и вируса с интервалом в 24 часа, что усилило эффекты комбинированной терапии.

Значимость результатов, полученных в диссертации, для науки и практики

В работе получены новые данные, имеющие значительное практическое значение для разработки онколитических вирусов для терапии онкологических заболеваний, в частности рака поджелудочной железы и глиобластомы.

Полученные в данном исследовании результаты скрининга онколитической активности штамма 17D ВЖЛ демонстрируют возможность его исследования в качестве онколитического агента в отношении опухолей толстой кишки, молочной железы, аденокарциномы легкого, PDAC, нейробластомы и астроцитомы. При этом показанная корреляция чувствительности клеточной культуры с ее интерфероновым статусом расширяет научные знания и позволяет лучше понять онколитический механизм действия ВЖЛ. Продемонстрированный противоопухолевый потенциал штамма 17D ВЖЛ на сингенной модели Pan02 позволяет отметить его как подающий надежды ОВ.

Изученная синергия ВВС и ФДТ позволяет сделать вывод о перспективности данного подхода для терапии глиобластомы. Также, несмотря на неэффективность полученного комплекса ВВС-протопорфирин IX, показано, что вирус способен сохранять свою инфекционность после взаимодействия с малыми молекулами. Благодаря этому возможно получение комплексов ВВС с другими малыми молекулами, которые обладают противоопухолевой активностью, но при этом не мешают репродукции вируса.

Результаты проведенного диссертационного исследования, без сомнения, обладают научной и прикладной ценностью для вирусологии, иммунологии и онкологии и вносят фундаментальный вклад в разработку новых онколитических вирусов.

Личный вклад автора

Диссертационная работа и автореферат являются самостоятельными научными трудами. Автором лично осуществлен всесторонний анализ актуальных научных публикаций, включая как отечественные, так и зарубежные источники. Автор принимал непосредственное участие в реализации всех экспериментальных исследований и самостоятельно провел анализ полученных данных. Все результаты исследования, представленные в работе, изложены и интерпретированы лично автором. Все научные статьи и презентационные материалы были либо разработаны непосредственно автором, либо созданы при его активном участии в процессе их подготовки.

Основные результаты диссертационного исследования отражены в 4 научных статьях и доложены на различных конференциях.

Соответствие диссертации паспортам научных специальностей

Диссертация, выполненная Назаренко Алиной Сергеевной, соответствует 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 диссертационной работы

Диссертация Назаренко Алины Сергеевны на тему: «Онколитический потенциал некоторых арбовирусов на моделях опухолей поджелудочной железы и глиобластомы» состоит из введения, главы «Обзор литературы», главы «Материалы и методы», главы «Результаты и их обсуждение», заключения, выводов, практических рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы, списка цитируемой литературы и приложения.

Введение построено в соответствии с общими требованиями и включает актуальность темы исследования, степень разработанности темы исследования, цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, методологию и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробацию результатов, личное участие автора, соответствие паспорту научной специальности, реализацию результатов работы, сведения о публикациях. Описаны объем и структура диссертации.

В первой главе (обзор литературы) рассмотрены характеристики семейств *Flaviviridae, Rhabdoviridae* и *Picornaviridae*. Автор излагает современные разработки и результаты применения в доклинических и клинических исследованиях в качестве онколитических агентов вируса Зика, вируса желтой лихорадки, вируса Западного Нила, вируса японского энцефалита, вируса денге, вируса везикулярного стоматита, полиовируса. Рассмотрены стратегии усиления онколитической терапии вируса везикулярного стоматита. Также приведена характеристика протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и глиобластомы.

Во второй главе (материалы и методы исследования) описаны вирусы, клеточные линии, лабораторные животные, реактивы и питательные среды. Приведено описание культивирования клеточных линий и вирусов, титрования вирусов, определения чувствительности клеточных линий к вирусам, определения РНК вирусов методом ПЦР в режиме реального времени, оценки

чувствительности клеточных линий глиобластомы человека к протопорфирину IX и вирусу везикулярного стоматита, методов получения комплексов вируса везикулярного стоматита, определения противоопухолевой активности вирусов *in vivo*, статистического анализа. Применяемые методики освещены полно, подробно, имеется возможность корректного воспроизведения опытов другими исследователями.

В третьей главе (результаты и их обсуждение) автор приводит экспериментальные данные по оценке онколитического действия флавивирусов (вируса желтой лихорадки штамм 17D и вируса клещевого энцефалита штамма Софьин) в сравнении с вирусом везикулярного стоматита и полиовирусом на модели опухолей мозга и рака поджелудочной железы *in vitro* и *in vivo*. Экспериментальная глава написана научным языком, материал изложен логично, подробно и четко.

Далее автор делает заключение и шесть выводов, соответствующих цели и задачам диссертационного исследования, которые в полной мере отражают результаты исследований.

В конце работы автор приводит практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Список литературы обширен, он включает 214 источников, в том числе 211 на иностранном языке и 45 (21%) за последние пять лет.

Диссертация изложена на 190 страницах машинописного текста, включает 67 рисунков и 4 таблицы. При изложении материала автор ссылается на рисунки и таблицы.

Автореферат и опубликованные научные статьи полностью отражают содержание диссертации. Научные положения, выносимые на защиту, достаточно полно отражены в опубликованных работах.

По мере ознакомления с содержанием работы к автору есть несколько замечаний:

1. В тексте диссертации выявлены отдельные опечатки и стилистически не вполне удачные формулировки. В главе «материалы и методы» после пункта 2.2.1 идет пункт 1.1.5 вместо 2.2.2.

2. Не совсем корректно использовать термин «клинические испытания». В профессиональной медицинской, юридической и научной среде общепринятым и более точным является термин «клинические исследования». Клинические исследования – это официальный термин, закрепленный в законодательстве (Федеральный закон № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»). Клинические испытания – это термин, который чаще встречается в разговорной речи.

3. Нет указаний, что каждый эксперимент был повторен и полученные данные не являются артефактом.

4. В главе «результаты и обсуждения» представлены в основном результаты экспериментов и практически отсутствует интерпретация и сопоставление с данными других исследований. И если исследования ВЖЛ и ВКЭ по этой теме в научной литературе весьма ограничены, то можно было бы сравнить их с другими хорошо изученными вирусами (в отношении дозы, панели клеточных линий, репликативной активности и т.п.).

Сделанные замечания не затрагивают качества выполненного исследования, его научной новизны и значимости.

Отмечая качество проведенного исследования, к автору есть несколько вопросов:

1. Чем был обусловлен выбор вируса желтой лихорадки и вируса клещевого энцефалита для оценки их в качестве онколитических агентов?

2. Вы исследовали количество нейтрализующих антител к вирусу желтой лихорадки в сыворотках, иммунизированных и неиммунизированных мышей с последующей виротерапией и делаете заключение об эффективности многократной виротерапии на иммунизированных мышах. А что делать в клинической практике, поскольку потенциальные пациенты могут не иметь вируснейтрализующих антител до введения вашего вируса и им сначала надо пройти курс вакцинации, а потом виротерапию?

3. Почему для оценки действия комбинированной терапии с протопорфирином IX на глиобластому человека вы исследовали вирус везикулярного стоматита, а не изучаемый вами вирус желтой лихорадки?

Заключение

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 завершенной научно-квалификационной работой, полученные результаты имеют теоретическое и практическое значение и могут способствовать значительному продвижению в области разработки препаратов для виротерапии.

Диссертация Назаренко Алины Сергеевны на тему: «Онколитический потенциал некоторых арбовирусов на моделях опухолей поджелудочной железы и глиобластомы» соответствует критериям, установленным требованием 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 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 № 1786, от

25.01.2024 №N 62, от 16.10.2024 № 1382, от 18.07.2026 № 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.

Отзыв на диссертационную работу Назаренко А.С. на тему: «Онколитический потенциал некоторых арбовирусов на моделях опухолей поджелудочной железы и глиобластомы» заслушан, обсужден и одобрен на совместной конференции отделов Государственной коллекции вирусов, бактериальных инфекций, медицинской микробиологии, генетики и молекулярной биологии бактерий НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи (протокол № 4 от 07 октября 2026 г.).

Отзыв составил:
Ведущий научный сотрудник лаборатории иммунобиотехнологии
отдела генетики и молекулярной биологии бактерий
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный исследовательский центр эпидемиологии и
микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор биологических наук
e-mail: olga-zubkova@yandex.ru,
тел: +7 (926) 207 65-59

Ольга Вадимовна Зубкова

Подпись д.б.н. Зубковой О.В. заверяю.
Ученый секретарь ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
кандидат биологических наук

Елена Владимировна Сысолятина

«16» октября 2026 г.

123098, Москва, ул. Гамалеи д. 18, +7(499)193-30-01, info@gamaleya.org