

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу
Юрченко Ксении Сергеевны «Изучение противоопухолевого потенциала
диких штаммов вируса болезни Ньюкасла на опухолевых клетках человека и
на модели экспериментального онкогенеза *in vivo*», представленную к
защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.02 – вирусология.

Актуальность темы диссертационного исследования

В настоящее время во всем мире ведётся интенсивная разработка новых противоопухолевых препаратов, поскольку ни одна из применяемых схем лечения рака не гарантирует полного выздоровления пациента. Перспективным направлением в лечении онкологических заболеваний считается виротерапия, или лечение опухолей с помощью онколитических вирусов – вирусов, которые избирательно инфицируют и разрушают опухолевые клетки.

Диссертационная работа Юрченко К.С. посвящена изучению противоопухолевой активности одного из таких вирусов – вируса болезни Ньюкасла (ВБН). Этот вирус хорошо изучен как онколитический агент. Противораковый потенциал ВБН исследовался в США, Канаде, Китае, Германии, Венгрии. Несколько штаммов вируса NDV (МТН-68/Н, NDV-PV701, NDV-Ulster, NDV-HUJ) были использованы в системных клинических исследованиях, в которых была показана безопасность ВБН и некоторая эффективность при внутриопухолевом введении в случае меланомы, опухолей головы и шеи, карциномы молочной железы и некоторых других видах рака. В России также проводились клинические исследования с использованием штамма Ла-Сота, который является лентогенным и имеет ограниченную литическую активность. В связи с этим, поиск природных штаммов ВБН с усиленными противоопухолевыми свойствами является актуальной задачей.

Степень обоснованности научных положений, новизны и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе хорошо представлена глава «обзор литературы». В ней диссертантом изучены и проанализированы проблемы онкогенеза, устойчивости опухолей к традиционным методам лечения, современные подходы к терапии опухолей, преимущества и возможности виротерапии и достижения в использовании ВБН в доклинических исследованиях и клинической практике.

Однако автор справедливо отмечает, что основные исследования посвящены рекомбинантным, аттенуированным и вакцинным штаммам ВБН, а противоопухолевый потенциал диких штаммов ВБН практически не изучен. В связи с этим, цель работы и задачи исследования представляются актуальными. Положения, выносимые на защиту, полностью отражены в материалах диссертации. Основное содержание диссертационной работы позволяет решить поставленную автором проблему.

Автором исследованы онколитические свойства 44-х природных штаммов ВБН в отношении 4-х линий опухолевых клеток разного генеза и выделен наиболее перспективный штамм для создания на его основе противоопухолевого препарата. Показана онкоселективность природных штаммов ВБН, что является залогом безопасности таких штаммов при проведении клинических испытаний. По данным исследований *in vitro* выделен наиболее перспективный для онкотерапии голубиный штамм ВБН, который показал хороший противоопухолевый эффект на модели сингенной мышечной карциномы Кребс-2.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Полученные автором новые данные об онколитической активности циркулирующих на территории России природных штаммов ВБН являются уникальными. Выделенный и охарактеризованный автором штамм NDV/Altai/pigeon/770/2011 может рассматриваться в качестве перспективного для создания на его основе прототипного противоопухолевого препарата. Этот штамм депонирован в Государственной коллекции вирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России и запатентован диссертантом в соавторстве – Патент № 2562115 РФ, 2015, Бюл. № 25.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

Результаты диссертационной работы опубликованы в восьми статьях, в пяти из которых Юрченко К.С. является первым автором, включая статью в высокорейтинговом журнале PLoS One. Результаты работы многократно представлялись автором диссертации на международных конференциях. Юрченко К.С. является соавтором трех патентов РФ, написанных по теме диссертации. Всё это свидетельствует о том, что практически весь экспериментальный материал, представленный в диссертационной работе, опубликован и прошёл строгую и независимую внешнюю оценку качества.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Работа представляет собой логически выстроенное исследование, направленное на отбор природного штамма вируса болезни Ньюкасла с наиболее выраженным онколитическим потенциалом. Дизайн представленного исследования может использоваться другими учёными для выявления новых непатогенных для человека вирусов из различных природных источников, которые в будущем будут служить основой для создания противоопухолевых препаратов.

Автором диссертации сделаны выводы о наличии у диких мезогенных штаммов вируса болезни Ньюкасла не только прямой литической активности в отношении опухолевых клеток человека, но также способности торможения опухолевой прогрессии посредством ингибирования ангиогенеза. Полученные результаты можно учитывать в разработке эффективных методов антиангиогенно-цитотоксической терапии злокачественных новообразований, чьи рост и метастазирование напрямую зависят от интенсивности васкуляризации опухолевой ткани.

Структура и объем работы.

Диссертационная работа построена традиционно, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Она изложена на 154 страницах машинописного текста, иллюстрирована 40 рисунками и 6 таблицами. В этом разделе указаны, также, приложения, но в печатном варианте диссертации приложения отсутствуют. Список литературы включает 290 литературных источников, в том числе 17 отечественных и 273 зарубежных авторов.

Замечания по диссертационной работе

Обзор литературы: большой, добротный, современный, с хорошим анализом опубликованных данных, в конце обзора имеется Заключение с обозначением места проведенного диссертантом исследования в контексте современного состояния проблемы. Несколько портит впечатление от обзора наличие в нём большого количества опечаток (практически на каждой странице), несогласований времён, потерь слов и букв.

Материалы и методы:

- 1) не указано, откуда получали РКЭ;
- 2) определяли не «lgTCID₅₀/мл», а саму дозу TCID₅₀/мл;

3) обоснование выбора модели в разделе «Лабораторные животные....» приводить не следует – это материал для Обсуждения, тем более что утверждение автора «Мышиная модель является оптимальной для проведения экспериментов по изучению противоопухолевой активности онколитических штаммов ВБН при виротерапии опухоли и была выбрана для решения поставленных задач» является спорным. Невысокая чувствительность мышинных опухолевых клеток к ВБН подтверждается авторами и в Результатах (рис. 24). Однако как модель она действительно широко используется. В материалах и методах просто описываются методы без обсуждения;

4) метод получения гомогенатов органов описан слишком кратко; не ясно, проводили ли авторы, например, отмывку фрагментов органов от крови, тем более что для анализа, как автор пишет, использовали органы «...с наиболее активным кровоснабжением (селезёнка, печень, почки, лёгкое) стр. 104». Детекцию вируса в крови леченных животных авторы не проводили, однако наличие инфицированной крови в гомогенатах может вносить искажения в результаты анализа, особенно при использовании такого высокочувствительного теста как ОТ-ПЦР.

Результаты:

- 1) при описании результатов таблицы 2 неправильно указан диапазон титров 640-5120 ГАЕ/мл для вирусного пула изолятов, наработанных в системе РКЭ. Из таблицы следует, что диапазон равен 160-4120 ГАЕ/мл;
- 2) п. 3.4 «В качестве контрольных клеток использовали мононуклеарные клетки периферической крови условно здорового донора с целью подтверждения проявления избирательного токсического действия исключительно на опухолевые клетки». Это утверждение автора несколько некорректно. Нельзя говорить об исключительной онкоселективности вируса, используя только один тип нормальных клеток;
- 3) желательно, чтобы автор более подробно обосновал использование маркера CD34 для оценки уровня гемопоза в опухолевой ткани.

Сделанные выше замечания носят редакционный характер и не влияют на качество экспериментального материала работы.

Все сделанные автором выводы корректны и подтверждены представленным в работе материалом. Автореферат диссертации полностью отражает ее содержание.

Соответствие диссертации требованиям ВАК

По теме диссертации опубликовано 25 работ, из них 8 статей, которые цитируются в международных базах данных. Четыре печатных работы опубликованы в ведущих

российских научных журналах, рекомендованных ВАК Минобразования и науки Российской Федерации.

Практически вся экспериментальная работа, представленная в диссертации, а также анализ материалов, включая написание статей, выполнены лично Юрченко К.С.

В диссертации приведены самые современные данные, полученные и опубликованные автором в 2013-2019 гг, поэтому новизна работы очень высока.

Диссертация Юрченко К.С. является научно-квалификационной работой, в которой впервые на территории России проведено развёрнутое исследование онколитических свойств диких штаммов вируса болезни Ньюкасла и выделен голубиный штамм с высоким противоопухолевым потенциалом.

Диссертационная работа Ксении Сергеевны Юрченко соответствует критериям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней (утв. Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842), а сама автор, несомненно, заслуживает присуждения ей степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Заведующая лабораторией вирусных гепатитов

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,

д.б.н. (03.01.03, 03.02.02)

Кочнева Г.В.

Подпись Кочневой Г.В. заверяю

Генеральный директор

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,

д.б.н.



Максютов Р.А.

Кочнева Галина Вадимовна, доктор биологических наук (03.01.03, 03.02.02),
заведующая лабораторией вирусных гепатитов Федерального бюджетного учреждения
науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Роспотребнадзора (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора),
630559 Новосибирская обл., р.п. Кольцово, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Раб. Тел. (383) 363-47-00 доп. 23-49
Сот. +7-923-122-5560
E.mail: kochneva@vector.nsc.ru