

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета НТУ.1.5.3.07
Буздина Антона Александровича
на диссертацию **Ряполовой Анастасии Владимировны**
«Изучение противоопухолевых свойств рекомбинантного вируса
везикулярного стоматита, экспрессирующего комбинацию
иммуностимулирующих факторов»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.3. Молекулярная биология

Актуальность темы диссертации

Работа А. В. Ряполовой посвящена конструированию и изучению свойств нового рекомбинантного вируса, в геноме которого закодирована слитая молекула двух мышинных иммуностимулирующих цитокинов (mIL12 и mGMCSF). Несмотря на значительные успехи применения иммунотерапии для лечения онкологических заболеваний многие солидные новообразования остаются резистентными к такому лечению, продолжают метастазировать и существенно ухудшают качество и продолжительность жизни пациентов.

Онколитические вирусы, модифицированные с помощью современных молекулярно-биологических подходов, представляют собой перспективный инструмент для активации противоопухолевого иммунного ответа. Выбор вируса везикулярного стоматита (VSV) в качестве платформы обусловлен его способностью эффективно инфицировать широкий спектр клеток, включая раковые, удобством генетических манипуляций, а также хорошей изученностью. Создание онколитического вируса, армированного генами цитокинов, позволяет рассчитывать на преодоление низкой иммуногенности опухоли за счет сочетанной активации механизмов как врожденного, так и адаптивного иммунитета.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация изложена на 123 страницах машинописного текста, содержит 35 рисунков и 17 таблиц. Список литературы включает 312 ссылок. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав материалы и методы, результаты и обсуждение, заключения, выводов, списка литературных источников и 2 приложений.

Научная новизна результатов диссертационной работы

Автором впервые сконструирован рекомбинантный VSV, экспрессирующий слитую молекулу mIL12-mGMCSF (rVSV-mIL12-mGMCSF), и подтверждена функциональная активность обоих цитокинов. Сравнительная оценка онколитического потенциала этого вируса и rVSV-GFP на панели из пяти мышинных опухолевых линий и на мезенхимальных

стволовых клетках позволяет прогнозировать эффективность его использования *in vivo*. Получены новые сведения о противовирусном ответе клеток B16-F10 и LL/2 на инфекцию VSV на уровне мРНК, которые потенциально могут объяснить их разную чувствительность к вирусному онколизу. Впервые продемонстрировано, что на модели CT26.WT терапия гVSV приводит к значительному увеличению времени выживаемости животных, тогда как на модели меланомы B16-F10 эффект выражен слабее и ни одной ремиссии не наблюдалось. Важное наблюдение о снижении количества иммуносупрессивных проопухолевых M2-подобных макрофагов в опухолевом узле вследствие инъекций гVSV может объяснить наблюдаемый терапевтический эффект.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость выполненного исследования состоит в расширении существующих представлений о механизмах противоопухолевого действия онколитических вирусов. В работе убедительно показано, что терапевтический эффект обусловлен преимущественно прямым онколизом раковых клеток, но также происходит изменение состава иммунных популяций опухолевого микроокружения. Кроме того, обнаруженные различия в ответе на инфекцию VSV между раковыми клеточными линиями дополняют картину потенциальных предиктивных маркеров чувствительности злокачественных новообразований к виротерапии.

Практическая ценность работы связана с разработкой прототипа лекарственного средства на базе VSV, обладающего перспективами для дальнейшего клинического изучения. Предложенные автором методические подходы к получению вируса, его характеристике и организации доклинических исследований на сингенных моделях могут быть использованы в качестве стандартизированной основы как в других научно-исследовательских проектах, так и в специализированных биотехнологических центрах.

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

Выводы диссертации и научные положения представляются вполне обоснованными, хорошо аргументированными и обсужденными.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации

Содержание автореферата соответствует содержанию, основным положениям и результатам диссертации.

Оценка диссертационного исследования

Диссертационная работа Ряполовой Анастасии Владимировны представляет собой законченное научное исследование, выполненное в направлении молекулярной биологии. В диссертации решена задача создания нового онколитического вируса на основе VSV, экспрессирующего слитую иммуностимулирующую молекулу mIL12-mGMCSF.

В работе приведены данные о характеристиках полученного вируса rVSV-mIL12-mGMCSF, имеющие важное значение для его потенциального применения в терапии онкологических заболеваний. Показана разница в эффективности вируса на сингенных моделях меланомы B16-F10 и рака толстой кишки CT26.WT, которая объясняется как различиями в чувствительности раковых клеток (продемонстрированными *in vitro*), так и разным эффектом на фоне терапии.

Основные результаты диссертации представлены в 4 публикациях в рецензируемых журналах, индексируемых в базах Web of Science и Scopus, и апробированы в ходе выполнения исследования.

Отмечается соответствие темы, целей и задач, публикаций и положений, выносимых на защиту, паспорту научной специальности 1.5.3 Молекулярная биология (биологические и медицинские науки).

Замечания по диссертации

1. Не проведено *in vivo* исследование влияния человеческих вариантов цитокинов в геноме VSV на терапевтическую эффективность онколитического вируса.
2. В работе большое внимание уделяется нарушению интерферонового ответа в раковых клетках, однако на панели используемых линий не проводится анализ секреции как интерферонов 1 типа, так и интерферонов 2 типа, при этом наблюдается практически полная невосприимчивость к заражению VSV у клеток линии SCC VII.

Отмеченные недостатки не снижают высокого качества исследования и не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации, описанные выше. Результаты оригинальны, обладают научной новизной и практически значимы.

Буздин Антон Александрович

Докторская диссертация защищена по специальности

03.00.03 «Молекулярная биология»

АНОО ВО «Университет «Сириус»

Адрес организации: 354340, Российская Федерация, Краснодарский край,
федеральная территория «Сириус», Олимпийский проспект, д.1

Телефон: +7 916 389 1019

e-mail: buzdin.aa@talantiuspeh.ru