

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы

ЮРЧЕНКО Ксении Сергеевны

«Изучение противоопухолевого потенциала диких штаммов вируса болезни Ньюкасла на опухолевых клетках человека и на модели экспериментального онкогенеза *in vivo*», представленной к защите на соискание ученой степени

кандидата биологических наук по специальности

03.02.02 - вирусология

Ньюкаслская болезнь (НБ)- псевдочума птиц - это высококонтагиозная вирусная инфекция, главным образом куриных, характеризующаяся пневмонией, энцефалитом, множественными точечными кровоизлияниями и поражением внутренних органов. Инфекция убиквитарна, зарегистрирована на всех континентах. Относится к особо опасным инфекциям. Её впервые диагностировал и описал Краневельд в 1927 г. на острове Ява. Размер вирионов от 120 до 300 нм. Оболочка вирионов имеет выступы нити длиной 8 нм и содержит АГ-компоненты. Внутренний компонент - нуклеокапсид (G-АГ) представляет собой длинную заостренную пуговку диаметром 13 нм. Структурные единицы - протеины этой трубки (капсомеры) расположены по спирали вокруг центральной оси, внутри них находится РНК. Определен полный геном вируса (12492 основания), выяснена степень структурной однородности у разных штаммов методом "фингерпринта" (отпечатков пальцев). На сегодняшний день выходит на первое место разработка принципиально новых и совершенствование существующих методов комплексного лечения злокачественных новообразований, основанных на внедрении новейших технологий и достижений в современной и клинической онкологии. В последние годы большие надежды возлагаются на разработку таргетных подходов терапии опухолей, среди которых виротерапия - экспериментальный способ лечения злокачественных новообразований, использующий для селективного лизиса опухолевых клеток либо генетически-модифицированные инфекционные агенты, либо вирусы, проявляющие природные онколитические свойства (Tedcastle, 2012). Среди широкого разнообразия онколитических вирусов вероятным кандидатом в поиске эффективного агента для виротерапии является вирус болезни Ньюкасла (семейство *Paramyxoviridae*, род *Avulavirus*). Вирус болезни Ньюкасла не патогенен для человека и, являясь вирусом птиц и вызывая у них высококонтагиозное заболевание, обуславливает отсутствие иммунитета у человека к этому вирусу.

Автором диссертационного исследования поставлена цель - изучение противоопухолевого потенциала природных штаммов вируса болезни Ньюкасла, выделенных от диких мигрирующих птиц на территории РФ, на модели *in vitro* и при экспериментальном онкогенезе *in vivo*. При этом реализованы следующие задачи: 1. Проведен первичный скрининг цитотоксического действия штаммов вируса болезни Ньюкасла. 2. Дана оценка противоопухолевой активности вируса болезни Ньюкасла с наиболее выраженными цитолитическими свойствами при интратуморальной виротерапии мышины карциномы Кребс-2 на экспериментальной модели *in vivo*. 3. Изучена динамика опухолевой прогрессии и характер морфологических изменений в опухолевой ткани карциномы Кребс-2 у мышей после курса виротерапии методами световой микроскопии. 4. Дана количественная оценка влияние на сосуды в опухолевой ткани у мышей с карциномой Кребс-2 после курса интратуморальной виротерапии вирусом болезни Ньюкасла, определена

экспрессия VEGFR в опухолевой ткани иммуногистохимическим методом с последующим анализом влияния виротерапии на ангиогенез опухолевой ткани.

Юрченко К.С. впервые проведено развернутое исследование по оценке цитотоксических свойств коллекции диких штаммов вируса болезни Ньюкасла, выделенных из природных резервуаров, в отношении опухолевых клеточных линий человека (HCT116+/, HeLa, A549 и MCF7). Получены данные о наличии уникальных онколитических свойств у природных не аттенуированных и не адаптированных штаммов вируса болезни Ньюкасла, выделенных от диких мигрирующих птиц на территории Российской Федерации. Автором выбран природный голубиный штамм ВБН NDV/Altai/pigeon/770/2011, обладающий выраженным онколитическим потенциалом в отношении опухолевых клеток человека. Впервые описано влияние серии интратуморальных инъекций природного мезогенного штамма NDV/Altai/pigeon/770/2011 на опухолевую прогрессию карциномы Кребс-2 на иммунокомпетентных мышах. Доказана безопасность штамма для нормальных здоровых клеток, исследована динамика изменения прогрессии опухолевого процесса после курса виротерапии природным штаммом NDV/Altai/pigeon/770/2011, что наряду с динамикой изменений продукции сосудистых факторов позволило сделать вывод о наличии ангиоангиогенных свойств вируса.

Результаты исследования могут быть использованы для дальнейших исследований и разработок виротерапевтических препаратов, направленных на борьбу с онкологическими заболеваниями (патент №2562115 «Штамм вируса болезни Ньюкасла для изучения онколитических свойств и механизмов онколизиса для создания прототипного противоопухолевого препарата»). Исследования показали наличие способности у дикого природного штамма вируса болезни Ньюкасла не только напрямую убивать опухолевые клетки, но и участвовать в торможении опухолевой прогрессии посредством ингибирования кровоснабжения опухоли.

Впечатляет и объем применяемых методов в работе - вирусологические методы (выделение вируса в системе РКЭ, серологические методы (постановка реакции гемагглютинации, реакции торможения гемагглютинации), титрование вирус-содержащего материала на клеточной культуре *Vero*), методы клеточной биологии (культивирование клеточных линий, оценка жизнеспособности клеток, иммуноцитохимическое окрашивание), гистологические методы (обзорное окрашивание препаратов и иммуногистохимическое выявление маркеров на парафиновых срезах), методы световой и флуоресцентной микроскопии, а также морфометрический анализ. Автором получены данные о наличии цитолитических свойств у природных штаммов вируса болезни Ньюкасла и подходах к отбору природного штамма с наиболее выраженным онколитическим эффектом на опухолевых клетках человека с доказательством противоопухолевых свойств на животной модели при экспериментальном онкогенезе. Наиболее выраженный противоопухолевый потенциал на исследуемых опухолевых клеточных линиях демонстрирует мезогенный штамм NDV/Altai/pigeon/770/2011, выделенный от сизого голубя, будучи безопасным для здоровых клеток человека. Серия однократных интратуморальных инъекций в течение четырех суток природным штаммом вируса болезни Ньюкасла NDV/Altai/pigeon/770/2011 способна сдерживать рост опухолевого узла на животной модели экспериментального онкогенеза с привитой внутримышечно мышшиной карциномой Кребс-2. Интратуморальная виротерапия штаммом вируса болезни Ньюкасла NDV/Altai/pigeon/770/2011 мышшиной карциномы Кребс-2 *in vivo* в течение четырех суток сопровождалась структурными изменениями опухолевой ткани за счет появления некрозоподобных

структур и проявления антиангиогенных свойств вируса, что способствует развитию ишемии внутри опухоли.

Работа получила широкую апробацию. По теме диссертации опубликовано 24 работы, в том числе в 7 статьях, 14 тезисах и 3-х патентах; 4-е печатные работы опубликованы в ведущих российских научных журналах, рекомендованных ВАК Минобразования и науки Российской Федерации и в 3-х международных журналах, а также в трудах международных конференций.

Диссертационная работа Юрченко Ксении Сергеевны «Изучение противоопухолевого потенциала диких штаммов вируса болезни Ньюкасла на опухолевых клетках человека и на модели экспериментального онкогенеза *in vivo*», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 - вирусология, полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Юрченко Ксения Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия  
имени С.М. Кирова  
Министерства обороны Российской Федерации  
Заслуженный работник высшей школы  
Российской Федерации  
профессор кафедры микробиологии,  
доктор медицинских наук, доцент

  
Малышев Владимир Васильевич

Специальность - 03.02.02–вирусология  
Адрес: ул. Академика Лебедева, д. 6,  
г. Санкт-Петербург, 194044  
e-mail: vladmal\_spb@list.ru  
тел. +7 (812) 499 44 65

«10» сентября 2019 г.

Подпись профессора кафедры микробиологии  
Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова  
доктора медицинских наук, доцента  
Малышева Владимира Васильевича

«Заверяю»  
Начальник отдела кадров

  
Гусев Дмитрий Евгеньевич

«10» сентября 2019 г.

