

## ОТЗЫВ

официального оппонента Борисевича Сергея Владимировича  
на диссертацию Елпаевой Екатерины Александровны  
на тему «Генетические варианты вируса гепатита В, циркулирующего на  
территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области», представленную  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.02.02 «Вирусология»

В настоящее время регистрируется явный рост заболеваемости хроническим гепатитом В в г.Санкт-Петербурге и Ленинградской области, обусловленный увеличением лекарственной устойчивостью к реализуемым в аптечной сети лекарственным средствам.

Существующая практика применения интерферонов и аналогов нуклеоз(т)идов при лечении хронических форм гепатита В неизменно приводит к появлению резистентных штаммов и снижению эффективности лечения больных. Мутации устойчивости к аналогом нуклеозидов/нуклеотидов напрямую связаны с заменами в гене полимеразы вируса гепатита В, поэтому необходим постоянный мониторинг за появлением резистентных штаммов возбудителя гепатита В к химиопрепаратам различного класса, основанный на разработке методики выявления мутаций устойчивости к противовирусным препаратам.

Увеличение количества появления резистентных штаммов вируса гепатита В к химиопрепаратам, циркулирующих в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, необходимость разработки методики их выявления и своевременной корректировки лечения больных путем выбора оптимальной схемы лечения хронического гепатита В определяют актуальность данной работы.

Целью проведенных соискателем исследований являлась идентификация и характеристика генетических вариантов вируса гепатита В, циркулирующего на территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области.

Для достижения поставленной цели автором были решены следующие задачи:

- определено распределение генотипов вируса гепатита В в Санкт-Петербурге и Ленинградской области в период с 2008 по 2014 гг.;

- выявлены мутации в гене полимеразы вируса гепатита В, определяющие устойчивость к аналогам нуклеотидов/нуклеозидов у пациентов с хроническим гепатитом;

- разработан метод определения мутаций устойчивости в YMDD-мотиве полимеразы вируса гепатита В, основанный на ПЦР в реальном времени;

- проанализированы структуры генома популяции вируса гепатита В у пациентов, включая минорные варианты, с использованием полногеномного метода глубокого секвенирования (NGS – секвенирования следующего поколения);

- проведен анализ нуклеотидных замен в preCore/Core и preS/S областях генома вируса гепатита В, определяющих снижение синтеза вирусных белков (HBeAg и HBsAg).

Научная новизна работы заключается в том, что впервые разработан диагностический метод выявления мутации устойчивости к противовирусной терапии (nM204I/V), основанный на ПЦР в реальном времени. Кроме того, впервые для изучения популяции вируса гепатита В в отдельном организме хозяина применено полногеномное секвенирование нового поколения.

Научная ценность и практическая значимость работы очевидна и заключается в выявлении аминокислотных замен, приводящих к снижению концентрации серологических маркеров и появлению мутаций устойчивости к противовирусным препаратам в YMDD-мотиве полимеразы вируса гепатита В. Применение ПЦР-РВ обеспечивает выявление мутаций устойчивости, что позволяет врачу-инфекционисту прогнозировать тяжесть течения заболевания и эффективность противовирусной терапии. Выполнено NGS секвенирование 12 полных геномов вируса гепатита В, что позволило расширить знания по выявлению мутаций устойчивости к противовирусным препаратам.

Значение полученных результатов для науки и практики весьма ценно, так как результаты исследований могут быть использованы в практическом здравоохранении при выборе оптимальной схемы лечения хронического гепатита В у пациентов, а также при создании диагностической тест-системы для определения мутаций устойчивости к противовирусным препаратам.

Диссертация соответствует общим требованиям к оформлению кандидатских диссертаций, утверждёнными в ГОСТ Р 7.0.11–2011. Изложена на 119-ти страницах машинописного текста и построена по традиционному плану - состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (материалы и методы, результаты исследования и обсуждения полученных результатов), выводов, списка литературы. Работа иллюстрирована 14 таблицами и 16 рисунками. Библиографический справочник включает 206 источников на русском и иностранных языках.

Основные научные результаты, изложенные в диссертации, получены в ходе выполнения плановых Государственных НИР, Государственного задания, выполненного в ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России и опубликованы в научных отчетах. Фрагменты исследований представлены в 13 научных отечественных публикациях, в том числе 4 из которых входят в Перечень реферируемых публикаций, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

В диссертации приведены результаты, полученные лично автором и выполненные совместно с другими сотрудниками, представленные с их согласия.

Совокупность новых научных положений, выносимых на защиту, обоснована приведенным по тексту теоретическим и большим экспериментальным материалом, который обуславливает и подтверждает достоверность положений, выносимых на защиту, и представленных выводов.

Выводы, сформулированные Елпаевой Екатериной Александровной, корректны и в полной мере отражают суть и научную значимость результатов работы.

Работа выполнена на современном научно-методическом уровне и имеет внутреннее единство.

Полученные автором результаты реализованы разработкой метода выявления мутаций устойчивости к противовирусной терапии, основанный на ПЦР-РВ.

Оценивая работу положительно, следует отметить наличие в диссертации ряда недостатков, не снижающих общего положительного впечатления об оппонируемой работе и не влияющих на ее научную и практическую значимость:

1. На стр. 37 соискатель не корректно разделил диагностику вируса гепатита В на 2 группы: прямое обнаружение возбудителя (выявление ДНК ВГВ) и косвенное (определение антител и антигенов). Выявление антигена возбудителя не может быть отнесено к косвенному методу.

2. На стр.63 упоминаются подпункты 3.2.1.2 и 3.2.1.3, однако в содержании такие подпункты не содержатся. Аналогичная картина на стр. 66, 69, 70 (см. подпункты 3.2.2.1-3.2.2.4).

3. По тексту диссертации встречаются орфографические и стилистические ошибки (стр. 47, 65, 67, 69, 82, 83 и др.), а также неудачные выражения («... также может было ...», стр.11), которые не снижают научной и практической значимости оппонируемой работы.

Тем не менее, указанные недостатки, в целом, не снижают общей положительной оценки диссертации.

#### **Вывод.**

Диссертация Елпаевой Екатерины Александровны является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная задача, имеющая важное значение в области развития отечественного здравоохранения. Диссертация соответствует

требованиям п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а соискатель заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 «Вирусология».

НАЧАЛЬНИК ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «48 ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ» МИНИСТЕРСТВА ОБОРОНЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
доктор биологических наук, кандидат медицинских наук,  
профессор по специальности 03.02.02 «Вирусология»

«04» апреля 2016 г.


 Борисевич Сергей Владимирович

141306, Московская область, г.Сергиев Посад-6, ул.Октябрьская, д.11.  
Тел. 8(496)552-12-00, [48cnii@mil.ru](mailto:48cnii@mil.ru).

Подпись официального оппонента Борисевича С.В. заверяю.

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОГО СОВЕТА  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
«48 ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ»  
МИНИСТЕРСТВА ОБОРОНЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник

«04» апреля 2016 г.

 Краснянский Владимир Павлович

