

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, член-корреспондента РАН, заведующего лабораторией вирусных гепатитов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Михайлова М.И. на диссертационную работу Герасимовой Вилены Васильевны «Молекулярно-эпидемиологическая характеристика вирусов гепатитов В и С в Республике Саха (Якутия) на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности вирусология 03.02.02.

Актуальность темы диссертационного исследования.

Фундаментальные исследования последних десятилетий позволили определить основные эпидемиологические, клинические и морфологические проявления инфекций, вызываемых гепатотропными вирусами. В настоящее время доказана единая природа острых и хронических вирусных гепатитов, представляющих собой фазы общего инфекционного процесса. Вирусные гепатиты — одна из наиболее серьёзных и актуальных проблем здравоохранения практически во многих странах мира. Абсолютным достижением в области изучения вирусных гепатитов явилась возможность применения новых методов исследований по обнаружению и изучению возбудителей их нуклеиновых кислот, вирусных антигенов и антител к ним. Значительно изменилась эпидемиология вирусных гепатитов, выразившаяся в стремительном увеличении количества пациентов с хронической патологией печени, вызванной вирусом гепатита В и вирусом гепатита С. В настоящее время в РФ проживает более 12 млн. человек, имеющих хроническую форму заболевания вирусным ГВ и ГС. Актуальным является изменение представлений о гетерогенности вирусов гепатита В и С, циркулирующих в популяции. Изучение генетического разнообразия, появления резистентных к лекарственным препаратам штаммов

возбудителя, является основой диагностики вирусных гепатитов в настоящее время. Гепатиты В и С (ГВ и ГС) являются социально-значимой инфекцией, что связано с их повсеместным распространением, а также тяжелыми отдаленными последствиями – циррозом печени и гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК). Снижение заболеваемости острыми гепатитами В и С в Российской Федерации является очень существенным и достигает практически минимальных показателей за последнее десятилетие. Однако, вызывает серьёзные опасения рост показателей заболеваемости хроническими вирусными гепатитами В и С. Этот показатель в Республике Саха (Якутия) достигает в настоящее время 28 и 39,1 на 100000 населения (ХГВ и ХГС, соответственно). В пределах указанной области отмечен высокий уровень заболеваемости и распространения, и, кроме того, инвалидности и смертности, вследствие циркуляции возбудителей гемоконтактных вирусных гепатитов. В Республике Саха (Якутия) лишь немногочисленные исследования посвящены изучению факторов хронизации вирусных гепатитов среди населения (как коренного, так и приезжего). Недостаточно сведений о гетерогенности вирусов гепатита В и С, циркулирующих на территории Республики Саха (Якутия). Исследования по этой проблеме единичны и не дают полного представления о генотипической и субгенотипической структуре ВГВ и ВГС у пациентов с хронической формой этих заболеваний. Представляет значительный интерес определение структуры популяций ВГВ и ВГС по субгенотипам, генетической вариабельности в области *precore/core* генома вируса ГВ и мутаций, приводящих к появлению устойчивости к противовирусным препаратам на территории Республики Саха (Якутия). Кроме этого остается малоизученной распространенность вирусов гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) на отдельных территориях республики. Таким образом, исследование Герасимовой В.В. по определению молекулярно-эпидемиологической характеристики вирусов гепатитов В и С в Республике Саха (Якутия) в современный период является актуальным и своевременным.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность.

Результаты диссертационной работы Герасимовой В.В., изложенные в научных положениях, выводах и практических рекомендациях, являются обоснованными, достоверными и доказательными, что обеспечивается высоким методическим уровнем выполнения работы, с использованием адекватных поставленным целям и задачам методик (ИФА, ПЦР в режиме реального времени, секвенирование), статистических методов обработки данных, и соответствуют в полном объеме полученным результатам исследования. Выводы и научные положения, выносимые на защиту являются логичными и корректными.

Научная новизна и теоретическое значение исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций.

Автором получены новые данные, характеризующие степень распространенности и особенности циркуляции различных генетических вариантов возбудителей вирусных гепатитов среди населения Республики Саха (Якутия). Впервые установлены два основных циркулирующих субтипа ВГВ (D2, D3), которые абсолютно доминируют (90 %) на различных территориях республики. Определена частота выявления ВГВ с наличием мутаций, ассоциированных с первичной лекарственной резистентностью к нуклеозидным аналогам среди ВГВ - инфицированных лиц, не получивших противовирусной терапии. Установлено, что большая часть обследованных больных ХГВ инфицирована генотипом D с наличием мутации в областях *pre-core* (PC-28) и ВСР. Обнаружена более высокая концентрация HBsAg у больных ХГВ, имеющих одновременно мутации ВСР и PC-28. Получены сведения о распространении отдельных генотипов/субтипов вируса ГС, которые представлены субтипами 1b, 1a, 2a, 3a, 3g в разных географических зонах Республики Саха (Якутия). Впервые в Российской Федерации выявлен изолят ВГС субтипа 3g.

Практическая значимость диссертационного исследования.

Практическая значимость диссертационной работы Герасимовой В.В. сомнений не вызывает. Автором установлено, что в Республике Саха (Якутия) большая часть выделенных изолятов ВГВ относится к генотипу D, при инфицировании которым пациенты слабо отвечают на интерферонотерапию. Определено, что в Республике Саха (Якутия) циркулируют вирусы ГВ, резистентные к ламивудину и тенофовиру, также выявлены изоляты ВГВ несущие мутации в ВСР и РС-28. Результаты исследования циркуляции изолятов ВГВ и ВГС на одних и тех же территориях, в течение длительного периода времени имеют важное значение для целей эпидемиологического надзора.

Структура и содержание диссертационной работы.

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3-х глав собственных исследований и обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 67 отечественных и 157 зарубежных источников. Диссертационная работа иллюстрирована 23 таблицами, 31 рисунком.

При выполнении работы автором был выполнен достаточно большой аналитический анализ литературы отечественных и зарубежных авторов. Очень подробно рассматриваются общие вопросы вирусологии гепатитов В и С, характеристика вируса с подробным описанием структуры генома, функцией белков и репликации. Нужно отметить, что такое значительное внимание этим вопросам является актуальным и необходимым для проведенной работы, так как имеет непосредственные отношения к теме диссертации. Герасимова В.В. анализирует значительное число зарубежных литературных источников, освещающих вопросы генетического разнообразия вирусов гепатита В и С, распространения и распределения всех генотипов на различных географических территориях. Автор находит литературные подтверждения тому, что в клинической картине

заболевания, путях передачи вируса, характеристике каждой фазы заболевания, ответной реакции на противовирусную терапию, развитию цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы наблюдаются существенные различия, зависящие от географического положения страны. Герасимова В.В. приводит многочисленные данные зарубежных авторов, посвященные проблеме распространения и особенности циркуляции различных вариантов вируса гепатита В и С, в том числе и несущих значимые генетические замены в различных областях генома. При этом автор отмечает крайне ограниченные аналогичные литературные данные по территориям Российской Федерации. Выраженное биоразнообразие ВГВ и ВГС, как и принципиальные географические различия в распространенности разных генетических линий вирусов, требуют проведения молекулярного мониторинга на каждой конкретной территории, что особенно актуально для Республики Саха (Якутия). В работе Герасимовой В.В. обобщены результаты исследований 15-летнего периода. В соответствии с поставленными задачами были проведены следующие исследования: изучение эпидемиологических и клинико-лабораторных характеристик хронических гепатитов В и С в Республике Саха (Якутия), исследование характеристик циркулирующих изолятов вируса ГВ и ГС с помощью молекулярно-генетических и молекулярно-эпидемиологических методов. В исследование были включены образцы сывороток крови 1304 больных ХГВ и ХГС из различных географических районов республики с подробным анализом эпидемиологии и вирусологии хронических гепатитов. Автором проведены исследования по определению количественных показателей содержания поверхностного антигена вируса гепатита В и вирусной нагрузки ВГВ и ВГС, выявлению циркуляции мутантных вариантов ВГВ, распределению уровня вирусной нагрузки в зависимости от генотипа вируса гепатита С. Необходимо отметить, что автором собрано значительное количество изолятов, имеющих мутации в различных областях генома, что позволило сделать обоснованные выводы о циркуляции данных штаммов на

заболевания, путях передачи вируса, характеристике каждой фазы заболевания, ответной реакции на противовирусную терапию, развитию цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы наблюдаются существенные различия, зависящие от географического положения страны. Герасимова В.В. приводит многочисленные данные зарубежных авторов, посвященные проблеме распространения и особенности циркуляции различных вариантов вируса гепатита В и С, в том числе и несущих значимые генетические замены в различных областях генома. При этом автор отмечает крайне ограниченные аналогичные литературные данные по территориям Российской Федерации. Выраженное биоразнообразие ВГВ и ВГС, как и принципиальные географические различия в распространенности разных генетических линий вирусов, требуют проведения молекулярного мониторинга на каждой конкретной территории, что особенно актуально для Республики Саха (Якутия). В работе Герасимовой В.В. обобщены результаты исследований 15-летнего периода. В соответствии с поставленными задачами были проведены следующие исследования: изучение эпидемиологических и клинико-лабораторных характеристик хронических гепатитов В и С в Республике Саха (Якутия), исследование характеристик циркулирующих изолятов вируса ГВ и ГС с помощью молекулярно-генетических и молекулярно-эпидемиологических методов. В исследование были включены образцы сывороток крови 1304 больных ХГВ и ХГС из различных географических районов республики с подробным анализом эпидемиологии и вирусологии хронических гепатитов. Автором проведены исследования по определению количественных показателей содержания поверхностного антигена вируса гепатита В и вирусной нагрузки ВГВ и ВГС, выявлению циркуляции мутантных вариантов ВГВ, распределению уровня вирусной нагрузки в зависимости от генотипа вируса гепатита С. Необходимо отметить, что автором собрано значительное количество изолятов, имеющих мутации в различных областях генома, что позволило сделать обоснованные выводы о циркуляции данных штаммов на

территории Республики Саха (Якутия). Важно отметить полученные автором данные о том, что частота первичной устойчивости к нуклеозидным аналогам была чрезвычайно низкой и составила 2,2 %. Сделан вывод о том, что выявленные мутации могут рассматриваться как потенциально значимые, и при назначении таким больным нельзя исключить риск формирования лекарственной устойчивости ВГВ. Проведенные исследования по изучению генетических взаимоотношений выделенных в Республике Саха (Якутия) изолятов вируса ГС от пациентов с хроническим гепатитом С продемонстрировали циркуляцию на территории вирусов, относящихся к трем генотипам (1, 2, 3) и пяти субтипам (1a, 1b, 2a, 3a, 3g).

В целом, хочется отметить квалифицированный и грамотный подбор литературы, необходимой для анализа проблемы и обоснования проведённых автором диссертационных исследований.

При выполнении некоторых молекулярных исследований образцы сыворотки крови людей были протестированы по объективным причинам в небольшом количестве, однако, достаточном для выполнения статистических расчётов. В целом, текст диссертации оформлен в соответствии с рекомендациями ГОСТ Р 7.0.11-2011. Автореферат диссертации в полной мере отражает основное содержание и результаты работы, соответствующие специальности 03.02.02 – вирусология.

Материалы диссертации достаточно полно отражены в 12 научных работах, из них 4 в рецензируемых журналах ВАК Министерства образования и науки РФ и 1 статья – в международном рецензируемом журнале для публикации основных результатов диссертационных работ на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе Герасимовой В.В. нет. В ходе рецензирования по оформлению диссертации имеются отдельные недочёты:

1. Синтаксические и орфографические опечатки.

2. Недостаточное число отечественных источников литературы, использованной для анализа молекулярно-эпидемиологической ситуации, опубликованных в последние годы.

В итоге, хотелось бы обсудить с автором диссертационной работы следующие вопросы:

1. На приведённых рисунках 22, 23, 26 – 29 показаны филогенетические взаимоотношения изолятов, выделенных автором в сравнении с данными из базы Genbank. Хотелось бы узнать, почему для построения филогенетических деревьев было взято так мало референсных последовательностей? Для таких сравнительных построений необходимо использовать очень значительное число последовательностей сравнения для получения достоверных результатов.
2. Почему для филогенетического анализа выделенных изолятов для изучения циркулирующих вариантов вируса ГВ и ГС в районах республики Вы исследовали только 35 образцов (ГВ) и 59 образцов (ГС) при наличии 345 сывороток крови больных с ХГВ и 249 сывороток крови пациентов с ХГС?

Следует отметить, что все поставленные вопросы носят лишь уточняющий характер, не снижая научной и практической ценности диссертационного исследования.

Заключение.

Таким образом, по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, объёму выполненных исследований, достоверности полученных результатов и внедрению результатов исследования диссертация Герасимовой Вилены Васильевны «Молекулярно-эпидемиологическая характеристика вирусов гепатитов В и С в Республике Саха (Якутия)» представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности вирусология 03.02.02.

является самостоятельным законченным научно-квалификационным трудом, имеющим существенное значение для вирусологии. Работа полностью удовлетворяет требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «вирусология», а её автор Герасимова Вилена Васильевна заслуживает присуждения искомой степени.

Официальный оппонент

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией вирусных гепатитов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»



М.И. Михайлов

Полное название места работы: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Должность: Заведующий лабораторией вирусных гепатитов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Почтовый адрес: 105064, г. Москва, Малый Казённый пер., д.5а.

Тел.: 8(495)917-49-00

Электронная почта: meeh_inst@mail.ru

Подпись Заведующего лабораторией вирусных гепатитов ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» д.м.н., проф., член-корреспондента РАН Михайлова М.И. заверяю

Ученый секретарь

ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

кандидат биологических наук



«2»ноября 2016 г.