

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Кичатовой Веры Сергеевны на тему: «Клинически значимые полиморфизмы в белках core и NS5A вируса гепатита С», представленной в ДС Д001.043.01 к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 «Вирусология»

Гепатит С (ГС) - социально значимая инфекция, для которой отсутствует специфическая иммунопрофилактика. Однако за последние несколько лет произошел принципиальный прорыв в терапии хронического гепатита С (ХГС) – появились высокоэффективные препараты прямого действия (ППД), при применении которых наблюдается достижение устойчивого вирусологического ответа (УВО) более чем в 95% случаев. Неудачи терапии ППД, к числу которых относятся даклатасвир, ледипасвир, омбитасвир и элбасвир, являющиеся препаратами первой линии, по-видимому, обусловлены сочетанием нескольких неблагоприятных факторов, одним из которых является феномен лекарственной резистентности вируса гепатита С (ВГС). Анализ Европейской базы данных по резистентности ВГС к ППД продемонстрировал, что в 83% случаев отсутствия УВО связано с аминокислотными заменами, ассоциированными с лекарственной резистентностью (Resistance Associated Substitution, RAS), в белках-мишенях для ППД. Наибольшее клиническое значение продемонстрировали RAS ВГС, связанные с резистентностью к ингибиторам белка NS5a – даклатасвиру, ледипасвиру, омбитасвиру и элбасвиру.

По расчетным данным, в РФ проживает около 3 миллионов инфицированных ВГС лиц, однако эффективные схемы лечения, включающие ППД последнего поколения, применяются крайне редко (1,7% случаев) ввиду высокой стоимости и низкой доступности данных препаратов. В результате этого, комбинированная терапия пегилированным интерфероном (ПЕГ-ИНФ) и рибавирином по-прежнему является актуальным, а иногда и единственно доступным видом терапии. В нашей стране на долю ВГС-1b, хуже поддающегося интерферонотерапии по сравнению с другими генотипами, приходится около 55% случаев

инфицирования ВГС. В ряде работ было показано, что замены аминокислот Q/H70R и M91L в core ВГС-1b ассоциированы с низкой частотой достижения УВО при лечении препаратами ИНФ, а также с повышенным риском гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Учитывая тот факт, что современные схемы лечения ХГС представляют собой существенное экономическое бремя для системы общественного здравоохранения, знания особенностей молекулярной эпидемиологии ВГС, полученные при изучении отечественных изолятов данного вируса, внесут свой вклад в выбор оптимальной схемы лечения пациентов с инфекцией ВГС.

Принимая во внимание высокую распространенность ВГС-1b на территории РФ, сохранение роли препаратов ИНФ в терапии, а также высокий риск развития ГЦК в исходе ХГС, существенным пробелом являлось отсутствие данных о распространенности мутаций в белке core среди штаммов ВГС-1b в РФ до момента проведения настоящего исследования.

Вышеуказанное, а также значительная распространенность ВГС на территории РФ наряду с высоким риском развития ГЦК в исходе ХГС определяет актуальность представленной работы, целью которой являлось определение распространенности и спектра клинически значимых полиморфизмов в белках core и NS5a.

В работе представлены данные о формировании рабочей коллекции штаммов ВГС, выделенных в РФ на протяжении 2007-2014гг.; о проведении анализа распределения генотипов ВГС на момент проведения исследования и выявлении возможных изменений в структуре генотипов вируса; об установлении распространенности на территории РФ ВГС с клинически значимыми аминокислотными заменами R70Q/H и M91L в белке core и выявлении возможных факторов, влияющих на распространение данных мутаций; об определении распространенности и спектра вариантов ВГС, ассоциированных с резистентностью к ингибиторам белка NS5a среди изолятов, циркулирующих на территории г. Москвы, а также об оценке факторов, способных оказывать влияние на их распространение.

Для выполнения поставленных задач применялись общепризнанные вирусологические, молекулярно-биологические и статистические методы исследования.

Научная новизна работы состоит в том, что впервые определена частота встречаемости прогностически неблагоприятных мутаций R70Q/H и L91M в белке core ВГС-1b на территории РФ. Впервые установлено, что почти каждый третий человек (31,2%), инфицированный ВГС-1b в РФ, имеет мутантный вариант вируса по 70 аминокислотной позиции белка core, а значит, обладает повышенным риском развития ГЦК и является носителем потенциально устойчивого к ИНФ штамма вируса. Впервые показано, что, как минимум, некоторые широко распространенные в российской популяции аллели HLA I, такие как A02 и B07, способны связывать пептиды core ВГС-1b, несущие варианты 70R и 91L, но не способны связывать пептиды, содержащие замены R70Q/H или L91M. Увеличение распространенности мутантных вариантов core ВГС-1b, выявленное среди населения РФ, может быть связано с иммунологическим бегством вируса. Разная способность иммунной системы хозяина распознавать мутантные варианты ВГС может объяснять различия в распространенности этих мутаций в разных регионах мира. Впервые определена распространенность и спектр полиморфизмов в NS5a ВГС, связанных с лекарственной резистентностью, среди российских штаммов вируса генотипов 1a, 1b и 3a. Впервые выявлена крайне высокая (57,9%) частота встречаемости RAS M28V NS5a среди ранее не леченных пациентов Московского региона, инфицированных ВГС-1a. Установлено, что вероятной причиной широкого распространения одних и полного отсутствия других RAS в аминокислотных (aa) последовательностях ВГС-1a в РФ является «эффект основателя» варианта ВГС-1a, импортированного на территорию России из США. Впервые показано, что наличие RAS в NS5a приводит к значительным изменениям ковариационного профиля в этом белке ВГС и сопровождается заменами в других аминокислотных позициях, не связанных с лекарственной резистентностью, что свидетельствует об изменениях в белке, направленных на сохранение его функциональности в

присутствии RAS. Впервые доказано, что присутствие RAS в NS5a может приводить к изменениям в предсказанном распознавании CD8 Т-клеточных эпитопов, в том числе к потенциальному иммунологическому бегству.

Теоретическая и практическая значимость работы состоит в выявлении высокого уровня мутаций R70Q/H core ВГС-1b (31,2%) среди населения РФ, что определило целесообразность введения скрининга пациентов, инфицированных ВГС-1b, на наличие данного полиморфизма до начала предполагаемого лечения препаратами ИНФ. При полном переходе на безинтерфероновые схемы лечения определение данных полиморфизмов позволит выявлять пациентов с повышенным риском развития ГЦК, нуждающихся в безотлагательном начале лечения ППД.

Полученные данные о распространенности полиморфизмов в NS5a ВГС, связанных с лекарственной устойчивостью, свидетельствуют о «нулевой точке» в изучении распространенности данных RAS, поскольку получены до внедрения в широкую практику терапии ХГС с применением ППД. Эти данные позволят в дальнейшем оценить, насколько определенные полиморфизмы в NS5a дают преимущество в сохранении и распространении ВГС в условиях широкого применения противовирусной терапии. Выявление широкой распространенности полиморфизма M28V в белке ВГС-1a среди населения РФ указывает на целесообразность тестирования на наличие этого варианта отечественных пациентов, инфицированных ВГС-1a, перед назначением схем терапии, включающих ингибиторы NS5a. Кроме того, доказательство умеренной распространенности в настоящее время наиболее клинически значимых RAS среди штаммов ВГС генотипов 1b и 3a на территории РФ указывает на отсутствие необходимости выявления генетических детерминант резистентности перед началом терапии у пациентов, инфицированных этими генотипами.

Основные результаты, представленные в диссертационной работе, опубликованы в 7 научных статьях, 4 из которых представлены в журналах, входящих в Перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК РФ, и 2 – в индексируемых в международных системах цитирования Web of Science

и Scopus. По теме диссертации опубликовано 9 тезисов российских и международных конференций.

При проведении оценки представленного автореферата диссертации В.С. Кичатовой следует отметить, что в работе, в соответствии с требованиями п.25 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...», изложены основные идеи и выводы диссертации, показан вклад автора в проведенное исследование, приведена степень новизны и практическая значимость полученных результатов исследований и содержится другая необходимая справочная информация, т.е. по формальным признакам работа соответствует указанному пункту «Положения...». Однако детальное рассмотрение представленного автореферата делает необходимым высказать ряд замечаний.

1 В разделе «Актуальность темы исследования» автор пишет, что «в участках генома вируса, кодирующих белки-мишени для ПДД, обнаруживались одна или несколько аминокислотных замен...» (стр. 3), в то время как мономерными единицами генома являются нуклеотиды.

2 В разделе «Результаты исследования и их обсуждение» автор указывает, что «наличие мутаций способно приводить к невозможности распознавания фрагмента генома core ВГС-1b молекулами HLA I...» (стр. 17), хотя речь идет об аминокислотных заменах в этой белке в результате мутаций в геноме вируса.

3 В таблице 1 не указано, в чем выражается частота встречаемости полиморфизмов; в таблице 2, в подписях к рисункам 3 и 4 не указано какие последовательности были изучены: аминокислотные или нуклеотидные. В подписи к рис.1 содержится аббревиатура, не расшифрованная при первом упоминании по тексту работы.

4 В тексте автореферата встречаются слэнговые выражения: «фитнес вируса» (стр. 6, 18), «в российских последовательностях ВГС-1а» (стр. 4), а также немногочисленные грамматические ошибки (стр. 8-11, 14-20).

Тем не менее, поскольку по автореферату можно воспроизвести облик представленной диссертационной работы, указанные недостатки этой

актуальной и наукоемкой работы не оказывают существенного негативного влияния на оценку ее качества.

В целом, объем диссертации (147 страниц), количество иллюстративного материала (11 таблиц и 24 рисунка) и цитируемых источников литературы (219 отечественных и зарубежных источников) соответствует т.н. «золотому стандарту» для кандидатских диссертаций (объем 130-170 страниц, 30-40 единиц иллюстративного материала, от 180 до 250 ссылок на литературные источники).

**ВЫВОД:** Содержание автореферата диссертации Кичатовой Веры Сергеевны на тему: «Клинически значимые полиморфизмы в белках core и NS5A вируса гепатита С», на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, дает основание, в соответствии с требованиями п.25 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...», для положительной оценки представленной работы и заключения о возможности присуждения соискателю искомой ученой степени.

Отзыв составила:

Старший научный сотрудник отдела  
ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник

 Плекханова Тамара Михайловна

Подпись Плекхановой Т.М. заверяю  
Ученый секретарь научно-технического совета  
ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России  
кандидат медицинских наук,  
старший научный сотрудник  
«28» января 2021 г.

 Краснянский В.П.