

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Чуланова Владимира Петровича
на диссертацию Кичатовой Веры Сергеевны на тему «Клинически значимые полиморфизмы в белках core и NS5a вируса гепатита С», представленную в совет Д 001.043.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева»
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 - вирусология

Актуальность темы

Инфекция, вызванная вирусом гепатита С, имеет широкое распространение по всему миру. Ежегодно инфицируется порядка 3 млн. человек, при этом у 60-80% лиц развивается хронический гепатит С. Неблагоприятные исходы инфекции, а также отсутствие возможности профилактической вакцинации обуславливают экономическое бремя данного заболевания, так как приводят к росту медицинских расходов и увеличению производственных потерь, связанных с утратой трудоспособности и преждевременной смертностью населения.

Благодаря современным препаратам прямого противовирусного действия, при лечении пациентов с хроническим гепатитом С удается достичь элиминации вируса более чем в 95% случаев. Одной из причин недостижения устойчивого вирусологического ответа является наличие мутаций в геноме вируса, ассоциированных с лекарственной резистентностью. Из-за отсутствия у РНК-зависимой РНК-полимеразы корректирующей активности, а также высокой скорости размножения вируса, в ходе репликации вирусного генома происходит постоянное накопление ошибок, что и обуславливает высокий уровень его генетической изменчивости. Наибольшее клиническое значение, за счет возможности накопления в популяции и длительной циркуляции в организме хозяина после провала терапии, продемонстрировали мутации, ассоциированные с лекарственной резистентностью к ингибиторам NS5a.

Однако высокоэффективные схемы лечения, включающие препараты прямого действия последнего поколения, в нашей стране еще не имеют широкого применения в виду высокой стоимости и низкой доступности данных препаратов. В результате, комбинированная терапия пегилированным интерфероном и рибавирином, обладающая гораздо меньшей эффективностью, по-прежнему является весьма актуальным видом терапии на территории РФ. Но и при назначении препаратов интерферона, как показал ряд зарубежных исследований, существует проблема наличия мутаций в белке core вируса гепатита С субтипа 1b, ассоциированных с низкой частотой достижения устойчивого вирусологического ответа, а также с повышенным риском развития гепатоцеллюлярной карциномы. Принимая во внимание высокую распространенность субтипа 1b на территории РФ, составляющей до 55% от общей популяции вируса гепатита С, сохранение роли препаратов интерферонов в терапии, а также высокий риск развития гепатоцеллюлярной

карциномы в исходе хронического гепатита С, представляется весьма существенным пробелом отсутствие исследований интерферон-резистентных мутаций в Российской Федерации до момента проведения настоящего исследования.

Таким образом, представленная диссертационная работа направлена на выявление молекулярных особенностей вируса гепатита С, свойственных для штаммов вируса, циркулирующих именно на территории РФ и оказывающих негативное влияние на исходы инфекции и достижение устойчивого вирусологического ответа при проведении противовирусной терапии.

Эти обстоятельства позволяют говорить о том, что проведенное соискателем исследование обладает не только актуальностью, но и высокой **научной новизной**: впервые в Российской Федерации была определена распространенность прогностически неблагоприятных мутаций в 70 и 91 aa позиции белка core ВГС-1b. В условиях *in silico* была проведена оценка распознавания молекулами главного комплекса гистосовместимости 1 и 2 класса вирусных пептидов содержащих и не содержащих исследуемые мутации. При оценке распространенности мутаций, ассоциированных с лекарственной резистентностью к ингибиторам NS5a впервые была выявлена крайне высокая (57,9%) частота встречаемости мутации M28V NS5a среди ранее нелеченых пациентов Московского региона, инфицированных ВГС-1a. Впервые показано, что наличие ряда анализируемых мутаций в белке NS5a приводит к значительным изменениям ковариационного профиля в этом белке вируса, а также может приводить к изменениям в предсказанном распознавании CD8 Т-клеточных эпитопов, то есть к потенциальному иммунологическому бегству.

Работа выполнена на высоком научно-техническом уровне с использованием наиболее точных молекулярно-биологических методов анализа, **достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений и выводов не вызывают сомнений**. Полученные результаты соответствуют уровню исследований, необходимому для представления кандидатской диссертации, при этом автор лично участвовал в планировании исследования и практическом получении результатов на всех этапах диссертационной работы.

По основным результатам работы опубликовано 7 научных статей, в том числе 4 - в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, и 2 – в зарубежных изданиях 1 квартала. Материалы диссертации были представлены автором на 10 отечественных и международных конференциях.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Проделанная работа несомненно имеет высокую теоретическую значимость, поскольку дает вклад в понимание механизмов формирования успешности определенных штаммов вирусов с точки зрения их распространения в человеческой популяции. Кроме того, полученные данные позволяют в дальнейшем оценить, насколько определенные замены в белке NS5a дают преимущество вирусу в его сохранении и распространении в условиях более широкого внедрения противовирусной терапии препаратами

прямого противовирусного действия. К тому же полученные результаты имеют практическое значение в клинической области, т.к. способны внести существенный вклад в персонализацию лечения хронического гепатита С, весьма актуальную с экономической точки зрения в настоящее время.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа В.С. Кичатовой состоит из введения, основной части, включающей обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, списка использованных сокращений, списка литературы, включающего 219 литературных источников. Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста, иллюстрирована 24 рисунками, 11 таблицами и 6 приложениями.

Во введении автор обосновывает актуальность исследования, представляет степень разработанности темы, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методологию и методы исследования, формулирует цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы в полной мере охватывает все проблемы и достижения в изучении данной вирусной инфекции как с вирусологической стороны, так и со сторон эпидемиологической и клинической значимости. В целом, обзор написан хорошим литературным языком, и свидетельствует о том, что автор диссертации в полной мере разбирается в представленной теме работы.

Раздел «Материалы и методы» подробно описывает все использованные методики проведения экспериментов, которые относятся к общепризнанным и эффективным вирусологическим и молекулярно-биологическим методам исследования.

Разделы «Результаты» и «Обсуждение результатов» содержат подробное и исчерпывающее описание и анализ полученных данных.

В первой части исследования проведена оценка частоты встречаемости аминокислотных замен в белке core вируса гепатита С субтипа 1b, ассоциированных с повышенным риском развития гепатоцеллюлярной карциномы и сниженным ответом на интерферонотерапию. Автором был также проведен сравнительный анализ распространенности анализируемых мутаций в разных географических регионах и разных временных интервалах. Для этого была использована большая выборка готовых последовательностей белка core ВГС-1b из международных баз данных. Достоверное увеличение частоты выявления мутаций в вирусной популяции с течением времени на территории РФ примерно за 9 лет указывает на наличие позитивной селекции в популяции вируса, не наблюдавшийся среди вариантов вируса, циркулирующих в других географических регионах.

Исследования в условиях *in silico* позволили автору продемонстрировать, что одной из возможных причин накопления таких мутантных вариантов ВГС может являться иммунологическое бегство вируса, происходящее за счет нарушения распознавания вирусных эпитопов белка

core, несущих мутации, некоторыми широко распространенными в российской популяции аллелями HLA I (такими как A02 и B07).

Во второй части исследования, посвященной вопросу лекарственной резистентности к ингибиторам NS5a, помимо оценки распространенности мутаций, ассоциированных с пониженным уровнем достижения устойчивого вирусологического ответа, был проведен филогенетический и ковариационный анализы, оценка барьера резистентности выявленных мутаций, а также анализ наличия Т-клеточных эпитопов и их распознавание при наличии или отсутствии исследуемых мутаций. Полученные данные способны объяснить широкую распространенность некоторых RAS в белке NS5a ВГС и низкий барьер их появления в популяции не получавших терапию пациентов.

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, базируются на полученных результатах, их обсуждение проведено на основе анализа современной литературы, в том числе, статей зарубежных авторов последних лет. Полученные данные опубликованы в рецензируемых журналах соответствующего профиля. Таким образом, достоверность представленных в работе данных не вызывает сомнений, а тема работы, выводы и основные положения диссертации Кичатовой В.С полностью соответствуют специальности 03.02.02 – «Вирусология».

Замечания и вопросы для обсуждения

Принципиальных замечаний не имею. Диссертация содержит незначительное количество стилистических неточностей, не умаляющих общее восприятие работы. Вместе с тем, хотелось бы в рамках дискуссии обсудить с диссертантом следующие вопросы:

1. Каковы перспективы исследования лекарственной резистентности ВГС, в том числе мутаций в белке NS5A, в условиях внедрения в клиническую практику высокоэффективных пангенотипических противовирусных препаратов?

2. Аналогичным образом, какова будет клиническая значимость определения полиморфизмов в белке core после исчезновения из практики интерферонотерапии?

3. В работе отмечено снижение потенциального связывания Т-клеточных эпитопов белка NS5A вследствие наличия в них мутаций, приводящих к резистентности. Данный эффект наблюдался для субтипов ВГС 1a и 3a. Для субтипа 1b такая закономерность отмечена не была. С чем это может быть связано, и насколько отмеченный эффект универсален, а не является следствием выборки.

Заключение

Представленная диссертационная работа КИЧАТОВОЙ ВЕРЫ СЕРГЕЕВНЫ на тему: «Клинически значимые полиморфизмы в белках core и

NS5a вируса гепатита С» является законченным научным исследованием, выполненном на высоком теоретическом и экспериментальном уровне и имеющим не только фундаментальное, но и большое значение в клинической практике.

По своей актуальности, решению поставленных задач, теоретической и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 года (с изменением Постановления Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Кичатова Вера Сергеевна в полной мере достойна присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Официальный оппонент: доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе и инновационному развитию ФГБУ «НМИЦ фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» МЗ РФ
Чуланов Владимир Петрович

« 01 » февраля 2021 г.

Контактные данные:

тел.: +7925-748-88-74, e-mail: vladimir@chulanov.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

14.02.02- Эпидемиология, 14.01.09 - Инфекционные болезни

Адрес места работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127473, Москва, ул. Достоевского, 4, корп. 2.

Тел.: +7(495)631-15-15; e-mail: nmrc@nmrc.ru

Подпись В.П. Чуланова
удостоверяю:

Начальник отдела кадров *Рыжков С.А. Чубуков*

