

ОТЗЫВ

Официального оппонента доктора медицинских наук Эсауленко Елены Владимировны о диссертации Кичатовой Веры Сергеевны на тему «Клинически значимые полиморфизмы в белках core и NS5a вируса гепатита С», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 - вирусология

Актуальность темы исследования. Гепатит С является одной из важнейших медико-социальных проблем общественного здравоохранения во многих странах мира, в том числе и в Российской Федерации (РФ), что обусловлено значимым социально-экономическим ущербом, повсеместным распространением, тяжестью течения и активным вовлечением в эпидемический процесс лиц репродуктивного и трудоспособного возраста.

За последнее десятилетие произошел принципиальный прорыв в терапии хронического гепатита С (ХГС) – появились высокоэффективные препараты с прямым противовирусным действием (ППВД), эффективность которых составляет более 90%. Неудачи терапии, могут быть обусловлены сочетанием нескольких факторов, представленных как особенностями организма пациента, так и возбудителем инфекции. Одним из таких факторов является феномен лекарственной резистентности, в достаточной степени не изученный в нашей стране.

Наибольший интерес с клинической точки зрения представляет лекарственная резистентность к ингибиторам NS5a, однако данные по первичной распространенности мутаций NS5a, ассоциированных с лекарственной резистентностью, ограничены.

В зарубежных исследованиях показано, что наличие мутаций в 70 и/или 91 аминокислотной позиции белка core ВГС субтипа 1b, ассоциировано с низкой частотой достижения устойчивого вирусологического ответа при терапии препаратами интерферона, а также с повышенным риском гепатоцеллюлярной карциномы. До момента проведения текущего исследования, данные по частоте встречаемости подобных мутаций, среди

отечественных штаммов вируса отсутствовали. При этом, в нашей стране на долю субтипа 1b, приходится около 55% случаев инфицирования ВГС, что еще раз указывает на актуальность проведения исследования.

В этой связи рецензируемая работа В.С. Кичатовой, посвященная определению распространенности клинически значимых полиморфизмов в геноме ВГС, является своевременной и актуальной как для вирусологии, так и клинической практики.

Диссертационное исследование выполнено в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» при научном руководстве доктора биологических наук профессора РАН К.К. Кюрегяна. Диссертация в полной мере соответствует шифру специальности 03.02.02 – вирусология.

Достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов не вызывает сомнений. Работа выполнена на высоком методическом уровне с применением широкого спектра современных молекулярно-генетических, филогенетических, ковариационных и других методов анализа полученных данных. Все исследования грамотно запланированы, полученные результаты подвергнуты статистической обработке.

Исследование проведено с использованием достаточной выборки клинического материала полученного от 467 пациентов. 190 образцов сыворотки крови были получены в 2008, 2009, 2011 гг. от пациентов с клинически подтвержденным диагнозом «хронический гепатит С» для проведения ретроспективного анализа. В 2014 году сыворотки крови были получены от 277 позитивных по анти-ВГС пациентов. На некоторых этапах исследования анализируемый материал был дополнен готовыми нуклеотидными последовательностями генома вируса, взятыми из международных баз данных для проведения сравнительного анализа.

Научные положения, выносимые на защиту, обоснованы. Выводы логично вытекают из поставленных задач и результатов проведенных исследований. Автор лично участвовала в планировании и получении результатов на всех этапах диссертационной работы.

Диссертационную работу В.С. Кичатовой характеризует комплексность и убедительное документальное подтверждение материалов исследования.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Научная новизна диссертационной работы состоит в том, что автор впервые в РФ определила частоту встречаемости прогностически неблагоприятных мутаций R70Q/H и L91M в белке core ВГС-1b. Продемонстрировала, что некоторые широко распространенные в российской популяции аллели главного комплекса гистосовместимости I класса, 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.

Впервые определена распространенность и спектр полиморфизмов в NS5a ВГС, связанных с лекарственной резистентностью, среди российских штаммов вируса субтипов 1a, 1b и 3a. Также автором продемонстрировано, что наличие ряда анализируемых мутаций, приводит к значительным изменениям ковариационного профиля в этом белке, направленного на сохранение его функциональности в присутствии мутаций резистентности.

Впервые показано, что их присутствие в белке NS5a способно приводить к изменениям в предсказанном распознавании CD8 Т-клеточных эпитопов, в том числе к потенциальному иммунологическому бегству.

Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов. Полученные в ходе выполнения исследования результаты вносят существенный вклад в выбор оптимальной схемы терапии ХГС. С клинической точки зрения наиболее важно, что в ходе проведения диссертационной работы, автором доказана целесообразность проведения тестирования пациентов, инфицированных ВГС субтипа 1b на наличие

мутации в 70 aa позиции белка core, что позволит выявлять пациентов с повышенным риском развития гепатоцеллюлярной карциномы, нуждающихся в безотлагательном начале терапии ГППД.

Кроме того, автором выявлена широкая распространенность полиморфизма M28V среди отечественных штаммов вируса субтипа 1a, равная практически 58%. В то же время частота выявления наиболее клинически значимых мутаций среди геноизолятов вируса 1b и 3a не превышала показателя 5,4% для каждой отдельно взятой позиции. Следовательно, в настоящее время нет необходимости в тестировании пациентов, инфицированных данными субтипами на наличие мутаций, ассоциированных с резистентностью к ингибиторам NS5a.

Хотелось бы отметить высокое (31%) выявление мутации A30S в отечественных последовательностях ВГС субтипа 3a. Автор продемонстрировала, что наличие данной мутации приводит к ковариационным изменениям и в других аминокислотных позициях в пределах белка NS5a. Заполнение пробела знаний, в результате накопления опыта применения ингибиторов NS5a в отечественной клинической практике со временем, поможет по-новому оценить уровень значимости (или ее отсутствие) для данного мутантного варианта вируса.

Современные терапевтические схемы представляют существенное экономическое бремя для системы общественного здравоохранения. Соответственно, существует экономическая потребность в оптимизации терапии за счет выбора более дешевого, но эффективного препарата и сокращения продолжительности терапии. В этом случае знания особенностей молекулярной эпидемиологии ВГС, полученные при изучении отечественных изолятов, способны внести свой вклад в выбор оптимальной схемы лечения.

В дальнейшем результаты, выводы и практические рекомендации диссертации могут быть использованы в лечебно-профилактических учреждениях страны, оказывающих специализированную медицинскую помощь больным с хроническими вирусными гепатитами, в том числе базовом

клиническом отделении кафедры инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России.

Все вышеизложенное подтверждает научно-практическую значимость рецензируемого исследования.

Оценка оформления диссертационной работы. Диссертационная работа В.С. Кичатовой построена по традиционной форме. Она состоит из введения, основной части, включающей обзор литературы, описание материалов и методов исследования, собственные исследования и обсуждение полученных результатов, заключения, списка использованных сокращений, списка литературы и приложений.

Диссертация изложена на 147 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 24 рисунками, 11 таблицами и 6 приложениями, что облегчает восприятие работы. Список литературы включает 219 источников, из которых 192 иностранных.

Имеется заключение этического комитета на проведение исследований по теме работы.

Исследование в основном написано грамотно, материал изложен последовательно и логично, и в целом создаёт хорошее впечатление.

Основные результаты диссертационной работы были доложены на 10 отечественных и международных конференциях, а также в полной мере отражены в 7 научных статьях, в том числе 4-х в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для опубликования основных научных результатов на соискание ученой степени кандидата наук, и 2-х зарубежных изданиях, относящихся к 1 квартилю.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации. В автореферате отсутствует раздел «Объем и структура диссертации».

Выводы диссертационного исследования Кичатовой В.С. полностью соответствуют поставленным цели и задачам, что свидетельствует о законченности работы.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационного исследования нет. Общая оценка работы В.С. Кичатовой – положительная.

При ознакомлении с работой возникли следующие вопросы дискуссионного характера:

1. Современные ПППД для терапии ХГС включают ингибиторы NS3, NS5a и NS5b, почему в работе Вы остановились только на анализе мутаций, ассоциированных с резистентностью к ингибиторам NS5a?

2. В исследованиях, проведенных в других странах, частота встречаемости мутаций в белке NS5a у пациентов, не получавших терапию, не превышает 10%, в единичных случаях 18%. С чем связана высокая частота встречаемости мутаций M28V и A30S в РФ?

3. Вы рекомендуете использование, полученных Вами результатов исследования в практическом здравоохранении. Насколько возможно определение мутации ВГС, приводящих к резистентности ингибиторов NS5a в лабораториях ЛПУ в настоящее время, каким методом и какова стоимость?

4. Существуют ли в настоящее время ПППД для терапии пациентов с ХГС, эффективность которых более 95% вне зависимости наличия мутаций вируса, изученных Вами?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационное исследование Кичатовой Веры Сергеевны на тему: «Клинически значимые полиморфизмы в белках core и NS5a вируса гепатита С», выполненная при научном руководстве доктора медицинских наук профессора РАН Кюрегяна К.К., является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача – определена клиническая значимость и распространенность мутаций ВГС, приводящих к

