

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный исследовательский центр эпидемиологии  
и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
(ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России)

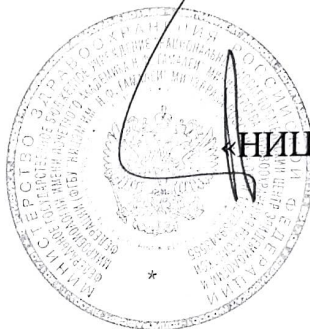
123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

Тел: 8 499-193-30-01  
Факс: 8 499-193-61-83

02.02.2012 № 02/01-05-148

<http://www.gamaleya.org>  
E-mail: [info@gamaleya.org](mailto:info@gamaleya.org)

На № 11 от 12.01.2012



**«УТВЕРЖДАЮ»**  
Директор ФГБУ  
«НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»  
Минздрава России,  
академик РАН  
А.Л. Гинцбург

**ОТЗЫВ**

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи»  
Министерства здравоохранения РФ  
на диссертационную работу Кичатовой Веры Сергеевны  
«Клинически значимые полиморфизмы в белках  
core и NS5a вируса гепатита С»,  
представленной к защите на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология

**Актуальность темы диссертационной работы**

По данным Всемирной организации здравоохранения, во всем мире хроническим гепатитом С инфицировано около 71 миллиона человек, однако, по данным литературных источников, этот показатель может достигать 177 миллионов. Являясь одной из основных причин развития рака печени,

вирусный гепатит С остается серьезной проблемой общественного здравоохранения во всем мире, даже несмотря на значительный прорыв в терапии хронической формы инфекции, наблюдающийся в последнее десятилетие. Современные препараты прямого противовирусного действия способны полностью излечить гепатит С более чем в 95% случаев, что снижает риск смерти от цирроза или рака печени, однако уровень доступа к диагностике и лечению остается довольно низким. В мае 2016 г. в ходе заседания Всемирной ассамблеи здравоохранения 194 государства-члена ВОЗ единогласно приняли историческое решение - искоренить вирусные гепатиты В и С к 2030 году.

В принятой ВОЗ «Глобальной стратегии по вирусным гепатитам» отмечается, что для достижения максимального воздействия на эпидемию вирусных гепатитов эффективные меры вмешательства необходимо осуществлять в различных сочетаниях и адаптировать их с учетом конкретных групп населения, места их нахождения и условий.

Учитывая, что в настоящее время эффективной профилактической вакцины против гепатита С не существует, а современные схемы лечения требуют существенных экономических вложений, знание особенностей молекулярной эпидемиологии гепатита С на территории РФ способно внести значительный вклад в выбор оптимальной схемы лечения пациентов с данной инфекцией. Особенно важна эта информация на современном этапе внедрения современных препаратов прямого действия. По этой причине диссертационная работа Кичатовой В.С. является весьма актуальной и своевременной.

### **Структура и содержание диссертационной работы**

Работа изложена на 147 страницах, построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных исследований и обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, перспектив дальнейшей разработки, практических рекомендаций и списка литературы, состоящего из 192 источников. Материал диссертации иллюстрирован 24 рисунками, 11 таблицами и 6 приложениями.

Во введении автор отражает актуальность темы диссертационного исследования, его научную новизну и практическую значимость, формулирует цели и задачи работы. Обоснована степень разработанности темы, в частности, отмечено практически полное отсутствие данных о распространенности мутаций в белке core среди штаммов генотипа ВГС-1b, широко представленного среди инфицированных ВГС пациентов в России.

**Теоретическая и практическая значимость** выполненной работы отражена в исследовании полиморфизмов, свойственных вариантам ВГС, распространенных в России, в частности мутации R70Q/H core ВГС-1b и мутации M28V в NS5a. Рекомендовано введение скрининга пациентов, инфицированных ВГС-1b, на наличие данных полиморфизмов, как до начала лечения схемами, основанными на интерферонах, так и после полного перехода на безинтерфероновые схемы лечения.

**Методология и методы исследования** включали стандартный набор вирусологических и молекулярно-биологических методов исследования.

**Основные положения, выносимые на защиту**, соответствуют целям и задачам работы, а также сделанным выводам.

**Степень достоверности и апробация работы** определяются адекватным выбором методов, тщательностью экспериментальной работы и логичными выводами. Личный вклад автора значителен. Результаты работы многократно были доложены на отечественных и международных конференциях о теме исследования.

**Обзор литературы** в полной мере подготавливает читателя к обсуждаемой в работе теме, представляет исчерпывающую информацию об особенностях возбудителя инфекции ВГС, его эпидемиологии, диагностике, роли иммунной системы в ограничении патогенеза ВГС инфекции, а также дает полное представление о достижениях и проблемах лечения данной инфекции.

Приводятся сведения о структуре вириона ВГС и важнейших областях его генома, основных структурных и неструктурных белках, причинах и механизмах изменчивости вируса. Дана детальная информация о

генетическом разнообразии ВГС, принципах классификации, роли рекомбинации в эволюции вируса и географическом распределении вариантов ВГС в мире. Подробная характеристика современного состояния эпидемии ВГС-инфекции составляет специальный раздел. Значительное внимание уделено методам и алгоритмам диагностики ВГС-инфекции.

Особый интерес представляет раздел, касающийся особенностей клеточного иммунного ответа в патогенезе ВГС-инфекции и связи между вариантами развития ВГС-инфекции и наличием определенных аллелей HLA, поскольку подобного рода исследования проводились автором в ходе выполнения работы.

Дана подробная характеристика современных подходов к лечению ВГС-инфекции и сравнительных достоинств и недостатков имеющихся средств терапии. Весьма детально представлены данные о механизмах лекарственной устойчивости ВГС, отмечена роль отдельных мутаций, их клиническая значимость, указано на недостаток сведений о роли полиморфных и предсуществующих мутаций в эффективности лечения инфекции.

Глава **«Материалы и методы исследования»** позволяет судить о большом объеме исследованного материала, достаточности, репрезентативности, информативности, высоком научно-технологическом уровне применявшихся автором методов исследования, позволивших получить достоверные данные по всем направлениям работы.

Дана характеристика исследованной группы пациентов, приведены и анализированы демографические и эпидемиологические данные. Соблюдение этических норм обеспечено одобрением протокола исследования, полученного от Этического комитета ФГБНУ ИПВЭ им. М.П. Чумакова.

Подробно описаны все экспериментальные методы, использованные в работе – выделение РНК, амплификация нуклеиновых кислот, генотипирование ВГС, биоинформационные методы – филогенетический анализ, анализ мутаций лекарственной устойчивости, ковариационный анализ аминокислотных позиций в белках вируса, анализ Т-клеточных эпитопов.

Статистическая обработка и использованный математический аппарат адекватны цели, задачам и содержательной части исследования.

Глава «**Результаты**» состоит из 4-х разделов, соответствующих задачам исследования. Работа хорошо проиллюстрирована рисунками, демонстрирующими результаты исследований, а также рационально составленными таблицами.

В соответствии с задачами исследования, сформирована рабочая коллекция штаммов ВГС, выделенных в РФ на протяжении 2007-2014 гг.

Проведен анализ текущего распределения генотипов ВГС в московском регионе для оценки динамики изменения структуры генотипов ВГС как среди ПИН, так и в целом в популяции. Показано, что субтипы 3a и 1b по-прежнему являются доминантными ВГС, в то время как 1a и 2k/1b - минорными.

Выполнена оценка распространенности полиморфизмов в 70 и 91 аминокислотных позициях белка core различных субтипов ВГС. Показано, что 31,2% лиц, инфицированных ВГС-1b, имеют мутантный вариант вируса R70Q/H, а значит, являются носителями потенциально устойчивого к интерферону вируса. L91M оказалась доминирующим вариантом среди отечественных изолятов ВГС (>80%), однако клиническое значение этой замены пока не определено.

Анализ Т-клеточных эпитопов позволяет предположить, что частота встречаемости замен R70Q/H и L91M может быть ассоциирована с позитивной селекцией под действием давления иммунного ответа.

Изучение распространенности мутаций, ассоциированных с резистентностью к ингибиторам белка NS5a, продемонстрировала необычно высокий уровень частоты мутации M28V (57,9%), связанной с лечением препаратами прямого действия. Причиной этого, по мнению автора, является «эффект основателя». Подтип 1a в России является относительно редким (около 7%), что, по-видимому, не станет препятствием на пути применения препаратов прямого действия, однако обнаруженный феномен подчеркивает важность дальнейшего мониторинга распространенности мутаций устойчивости ВГС.

Все полученные в ходе исследования последовательности генома ВГС размещены в международной базе данных GenBank.

В главе «**Обсуждение полученных результатов**» автор представил основные итоги своего исследования в контексте имеющихся литературных данных по заданной теме, что позволило судить об их научной новизне, теоретической и практической значимости. Этот раздел работы производит очень хорошее впечатление адекватностью оценки полученных результатов и зрелостью размышлений, касающихся необходимости внедрения новых препаратов для лечения ВГС-инфекции и мониторинга лекарственно-устойчивых штаммов вируса.

Диссертационная работа заканчивается **выводами**, которые вытекают из проведенной работы и свидетельствуют о достижении цели и задач исследования. Правильность выводов не вызывает сомнений. Выводы четко сформулированы и полностью отражают результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 03.02.02 – вирусология.

**Научная новизна** диссертационной работы заключается в:

1) получении принципиально новых данных о частоте встречаемости прогностически неблагоприятных мутаций в белке core ВГС субтипа 1b среди отечественных изолятов вируса;

2) выявлении накопления со временем этих мутаций среди штаммов ВГС субтипа 1b, циркулирующих в России, но не в мире;

3) выявлении потери способности некоторых широко распространенных в российской популяции аллелей главного комплекса гистосовместимости I класса распознавать вирусные пептиды при возникновении в них анализируемых мутаций белка core ВГС-1b;

4) определении распространенности и спектра полиморфизмов в белке NS5a ВГС, связанных с первичной лекарственной резистентностью, среди вирусов, принадлежащих к наиболее распространенным в России генотипам;

5) выявлении изменения ковариационного профиля белка NS5a ВГС, направленного на сохранение его функциональности в присутствии некоторых мутаций, ассоциированных с резистентностью;

б) демонстрации изменения предсказанного распознавания CD8 Т-клеточных эпитопов при появлении ряда мутаций в белке NS5a, таким образом способных обеспечивать потенциальное иммунологическое бегство мутантным формам вируса и некоторое преимущество по сравнению с диким типом вируса.

**Обоснованность и достоверность** научных положений и выводов диссертационной работы

О достоверности результатов и обоснованности научных положений свидетельствует применение широкого спектра современных методов исследований, включающих молекулярно-биологические (выполненные с использованием наборов реагентов ведущих мировых производителей) и биоинформационные – филогенетический анализ (с использованием оптимальных параметров для заданных целей), ковариационный анализ, а также моделирование взаимодействия исследуемых аминокислотных вирусных последовательностей с иммунной системой организма хозяина в условиях *in silico*. Автором проведен сравнительный анализ собственных результатов с данными мировой литературы. Выводы четко соответствуют поставленным задачам и отражают их решение.

**Научно-практическая значимость и рекомендации** по использованию результатов

В ходе выполнения диссертационной работы автором были получены данные, способные внести существенный вклад в выбор оптимальной схемы лечения пациентов с хроническим гепатитом С, проживающих на территории РФ:

1) продемонстрирована целесообразность введения скрининга пациентов, инфицированных ВГС субтипа 1b, на наличие мутаций R70Q/H в белке core, для выявления пациентов с повышенным риском развития

гепатоцеллюлярной карциномы, нуждающихся в безотлагательном начале лечения препаратами прямого противовирусного действия;

2) продемонстрирована целесообразность введения тестирования пациентов, инфицированных субтипом 1a ВГС, на наличие мутации M28V в белке NS5a до предполагаемого начала курса лечения омбитасвиром, ледипасвиром или велпатасвиром. .

Несомненным практическим достижением является проведенное автором депонирование в GenBank 190 нуклеотидных последовательностей белка core и 200 нуклеотидных последовательностей белка NS5a отечественных геноизолятов ВГС.

Работа также обладает высокой теоретической значимостью для сферы изучения проблем лечения хронического гепатита С: полученные данные позволят в дальнейшем оценить, насколько определенные полиморфизмы в NS5a дают преимущество в сохранении и распространении ВГС в условиях широкого применения противовирусной терапии на территории РФ.

Основные результаты проведенной работы в полной мере отражены в 7 научных статьях, в том числе 4 - в журналах, рекомендованных ВАК и 2 – в высокорейтинговых зарубежных изданиях, индексируемых в международных системах цитирования (Web of Science, Scopus). Материалы диссертации были доложены на 10-ти научно-практических конференциях.

### **Общие замечания**

Детальное рассмотрение представленной работы не выявило существенных недостатков как по существу научных результатов и сделанных выводов, так и по оформлению полученных данных.

Диссертационная работа в целом оформлена грамотно, с четкими формулировками на профессиональном уровне. Немногочисленные синтаксические и стилистические недочеты не снижают научной и практической значимости диссертационного исследования.



## **Заключение по работе**

Диссертационная работа Кичатовой Веры Сергеевны «Клинически значимые полиморфизмы в белках core и NS5a вируса гепатита С», выполненная под руководством доктора биологических наук, профессора РАН Кюрегяна Карена Кареновича и представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология, является законченным научным квалификационным исследованием, содержащим решения актуальных научных задач и поставленной цели по определению распространенности и спектра клинически значимых полиморфизмов в белках core и NS5a среди штаммов вируса гепатита С, циркулирующих на территории РФ, имеющая важное медико-биологическое и социально-экономическое значение.

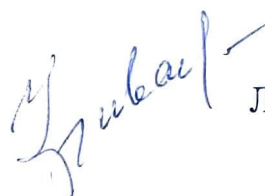
Диссертационная работа Кичатовой Веры Сергеевны полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г. и №748 от 02.08. 2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Отзыв на диссертацию Кичатовой Веры Сергеевны рассмотрен и утвержден на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 1 от 28 января 2021 года.

Отзыв на диссертацию обсужден, одобрен и утвержден на совместном заседании лаборатории энзимологии и лаборатории вирусов лейкозов 20 января 2021 г. (протокол № 1).

Отзыв составлен:

Зав. лабораторией энзимологии  
Института вирусологии им. Д.И.  
Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им.  
Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, д.м.н.,  
проф.



Л.В. Урываев

Зав. лабораторией вирусов лейкозов  
Института вирусологии им. Д.И.  
Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им.  
Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, д.б.н.,  
проф.



М.Р. Бобкова

Подписи д.м.н. Л.В. Урываева и д.б.н. М.Р. Бобковой заверяю  
Ученый секретарь ФГБУ «НИЦЭМ  
им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ



Л.К. Кожевникова

Сведения о составителях отзыва:

Урываев Леонид Викторович

Профессор, член-корреспондент РАН, член-корреспондент РАЕН, доктор медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология, руководитель лаборатории энзимологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Адрес: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16

Телефон: +7 (916) 017-24-48

E-mail: uryvaevlv@mail.ru

Бобкова Марина Ридовна

Доктор биологических наук по специальности 14.00.30 - эпидемиология, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией вирусов лейкозов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Адрес: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16

Телефон: 8 (499) 190-30-63

E-mail: [mrbobkova@mail.ru](mailto:mrbobkova@mail.ru)