

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационного исследования Елпаевой Е.А.  
«ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ВИРУСА ГЕПАТИТА В,  
ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА  
И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ», представленного на соискание  
ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 03.02.02 – Вирусология

**Оценка актуальности диссертационного исследования и его методического уровня.** Диссертационная работа посвящена вопросам изучения генетики вируса гепатита В, в частности исследованию распространенности и детальной характеристике различных генотипов вируса, циркулирующего в популяции инфицированных пациентов, которые проживают в Санкт-Петербурге и на территории Ленинградской области, для выяснения клинической значимости этих особенностей биологической организации вируса. В соответствии с целью диссертационного исследования соискателем грамотно сформулированы его задачи, которые сводятся к выяснению взаимосвязей между частотой мутации в гене полимеразы вируса гепатита В и формированием устойчивости к аналогам нуклеотидов/нуклеозидов у пациентов с хроническим гепатитом В, разработке молекулярно-биологических методов лабораторного анализа этого феномена и их использованию для контроля за генетической изменчивостью вируса гепатита В, определяющей чувствительность вируса к нуклеотидным/нуклеозидным аналогам в процессе проведения лечения инфицированных пациентов. Обозначенные аспекты актуальны не только для задачи совершенствования практики эпидемиологического надзора за инфекцией, но и имеют значение для поиска новых подходов к диагностике, профилактике и лечению.

Актуальность проблемы определяется также несовершенством диагностических технологий, в частности отсутствием данных по применению конкретных технологий молекулярно-биологического анализа (метод ПЦР в реальном времени и метод полногеномного секвенирования нового поколения /NGS/) для анализа структуры генома популяции HBV у пациентов, включая минорные варианты).

Многоплановость и сложность сформулированных в диссертационном исследовании задач потребовали привлечения различных исследовательских технологий (оценка эффективности проводимой противовирусной терапии у конкретных пациентов по динамике классических клинических критериев /параметры морфологии паренхимы печени пациентов, серологические диагностические маркеры, биохимические критерии повреждения гепатоцитов/ и по совокупности критериев, определяемых с использованием биохимических, вирусологических, микробиологических, серологических методов лабораторного анализа и широкого спектра молекулярно-биологических диагностических методов /выделение ДНК вируса гепатита В из исследуемых образцов биологического материала и проведение ПЦР для выяснения генотипа вируса и вирусной нагрузки, секвенирование фрагмента гена вирусной полимеразы и определение его мутаций, ответственных за устойчивость вируса к лекарственным препаратам из группы

аналогов нуклеотидов/нуклеозидов, определение мутаций устойчивости вируса к аналогам нуклеотидов/нуклеозидов методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени, определение нуклеотидной последовательности геномов ВГВ методом NGS секвенирования/, современный статистический анализ).

**Оценка научной новизны диссертационной работы.** Соискателем ученой степени в ходе проведения научной работы с использованием биохимических, вирусологических, микробиологических, молекулярно-биологических и иммунологических методов лабораторного анализа более полутора тысяч образцов крови инфицированных пациентов впервые разработан метод выявления у вируса гепатита В мутации устойчивости к противовирусной терапии (rtM204I/V), основанный на использовании технологии ПЦР в реальном времени. Впервые для изучения циркулирующих у конкретных пациентов популяций вируса гепатита В использована также методика полногеномного секвенирования нового поколения (NGS).

**Оценка теоретической и практической значимости диссертационного исследования.** Теоретическая значимость проведенного исследования заключается в обеспечении возможности определения у инфицированных пациентов генотипов вируса гепатита В и выявлении аминокислотных замен, сопровождающих мутации генома вируса, что приводит к уменьшению возможностей иммунного ответа со снижением концентрации серологических маркеров и появлению устойчивых к противовирусным препаратам вариантов вируса. Эти данные имеют значение как для оценки скорости прогрессирования патологических процессов в печени при развитии инфекции, так и для прогнозирования эффективности противовирусной терапии. Разработанный при выполнении исследования оригинальный метод обнаружения мутаций вируса гепатита В, обуславливающих устойчивость к противовирусным препаратам из группы нуклеотидных/нуклеозидных аналогов (в частности, rtM204I/V), при помощи ПЦР в реальном времени позволяет быстро и точно проводить первичный скрининг пациентов с хроническим гепатитом В, которые не отвечают на лечение противовирусными препаратами. В этом состоит основное практическое значение диссертационного исследования. Сформулированные в диссертационном исследовании рекомендации по применению в методологии лабораторной диагностики технологии NGS расширяют возможности адекватной диагностики HBV-инфекции молекулярно-биологическими методами и позволяют более эффективно осуществлять мониторинг эффективности терапии.

Достоверность полученных результатов диссертационного исследования сомнений не вызывает. Выводы соответствуют задачам исследования. Обоснованность их подтверждается достаточным количеством наблюдений, адекватной статистической обработкой полученных результатов. Материалы диссертационного исследования и полученные научные данные были представлены и обсуждались на многочисленных представительных всероссийских и международных научно-практических конференциях и научных конгрессах по инфекционным болезням, гастроэнтерологии, медицинскому применению молекулярно-биологических методов диагностики. Публикации соответствуют теме диссертационной работы. По материалам диссертации опубликовано

достаточное количество научных работ, включая публикации в источниках, рекомендованных ВАК. Существенных возражений и замечаний по автореферату диссертации нет.

**В плане дискуссии:** хотелось бы знать мнение соискателя о перспективах применения для лечения пациентов с хроническим гепатитом В новых противовирусных препаратов, в частности: не интенсифицируется ли эволюция вируса при широком использовании этих лекарственных препаратов?

**Заключение.** Диссертационное исследование Елпаевой Е.А. «Генетические варианты вируса гепатита в, циркулирующего на территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области», представленное к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 — Вирусология является самостоятельной завершенной научной квалификационной работой, содержащей новое решение одной из актуальных задач вирусологии. По актуальности, объему выполненных исследований, полученным результатам, научной новизне и практической значимости выполненная работа полностью соответствует требованиям к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 — Вирусология, а ее автор достоин присуждения искомой степени.

Профессор кафедры клинической лабораторной диагностики  
ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский  
университет им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, доктор медицинских  
наук, профессор

В.К. Козлов

Доцент кафедры внутренних болезней и нефрологии ФГБОУ ВО  
«Северо-Западный государственный медицинский университет  
им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, кандидат медицинских наук, доцент

В.В. Стельмах

Санкт-Петербург, 21 марта 2016 года

|         |                              |
|---------|------------------------------|
| Подпись | В.К. Козлова, В.В. Стельмаха |
| Заверяю | Л.В. Соколова                |
| «М»     | 03                           |



Контактные данные: Козлов Виктор Константинович, докт. мед. наук, профессор; профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ  
Российская Федерация, 191015, С.-Петербург, ул. Кировная, 41;

тел. (812)275-19-02; E-mail: kvk52@mail.ru

*Стельмах Виктория Валерьевна*, канд. мед. наук, доцент; доцент кафедры внутренних болезней и нефрологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ Российская Федерация, 191015, С.-Петербург, ул. Кирочная, 41;

тел. (812)303-50-00; E-mail: lednik-07@mail.ru