

ОТЗЫВ

официального оппонента Кюрегяна Карена Кареновича на диссертацию Щемелева Александра Николаевича «Характеристика лекарственной устойчивости ВИЧ-1 на территориях с различающейся генетической структурой вирусной популяции», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научным специальностям 1.5.10. Вирусология и 3.3.8 Клиническая лабораторная диагностика.

Актуальность темы выполненной работы

Одной из особенностей эпидемии ВИЧ в Российской Федерации является преобладание одного субтипа вируса, а именно А6, связанное с «эффектом основателя» и обусловленное с попаданием этого варианта вируса в группу потребителей инъекционных наркотиков и последующим его распространением по всей территории страны. В то же время, на современном этапе эпидемии, наблюдается рост генетического разнообразия ВИЧ-1 в стране. Наряду с различными субтипами вируса возрастает значение циркулирующих рекомбинантных форм, как импортируемых из разных регионов мира, так и возникающих на территории страны. Высокая степень генетической изменчивости играет важную роль в пандемии ВИЧ-инфекции, поскольку может способствовать формированию лекарственной устойчивости ВИЧ-1, как развившейся на фоне проводимой антиретровирусной терапии, так и первичной, возникающей при инфицировании резистентным вариантом вируса. На уровень распространенности лекарственно-резистентных вариантов ВИЧ-1 в популяции оказывает влияние целый ряд факторов, зачастую остающихся недостаточно изученными до сих пор. В то же время, с увеличением длительности применения антиретровирусных препаратов в человеческой популяции, наблюдается увеличение доли таких резистентных вариантов вируса, что делает критически важным молекулярно-генетический надзор за ними. В свою очередь, надзор за резистентными вариантами ВИЧ-1 и диагностика лекарственной устойчивости при ВИЧ-инфекции требуют диагностических инструментов, эффективность и аналитические характеристики которых не зависят от генотипа вируса, и которые могут с сопоставимой успешностью применяться в разных популяциях и странах, независимо от генетических особенностей, циркулирующих в них вариантов вируса. В связи с этим, диссертационное исследование, направленное на изучение лекарственной резистентности ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации и в Республике Гвинея, является крайне актуальным. Результаты данной работы имеют большое значение не только для понимания теоретических закономерностей циркуляции ВИЧ-1, но и для практического здравоохранения, поскольку являются основополагающими для организации своевременной диагностики лекарственной устойчивости ВИЧ-1.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Полученные в результате работы результаты, сформулированные выводы и выносимые на защите положения полностью соответствуют цели и задачам исследования. Диссертационное исследование выполнено на современном методическом уровне, достоверность полученных результатов не вызывают сомнения. Цель и задачи диссертационного исследования изложены четко и по своей значимости соответствуют уровню исследований, необходимому для представления кандидатской диссертации. Задачи и основные научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.10 Вирусология (п.4, п.8 и п.10), и паспорту научной специальности 3.3.8 Клиническая лабораторная диагностика (п.2, п.11 и п.12). Выводы диссертации и рекомендации логично следуют из полученных результатов.

Достоверность и новизна результатов диссертации

Достоверность полученных автором результатов определяется значительной выборкой исследованных образцов, полученных и проанализированных нуклеотидных последовательностей. Для решения задач исследования автором привлечен и адекватно использован широкий спектр молекулярно-биологических и биоинформатических методов. Полученные данные интерпретированы корректно и подвергнуты адекватной статистической обработке. Основные научные положения диссертационной работы прошли экспертизу при публикации в виде научных статей в рецензируемых журналах, а также при представлении в виде докладов на научных конференциях.

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что автором показано увеличение распространенности первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 за последние годы. Также автором получены новые данные о генетической структуре популяции ВИЧ-1 и спектре и распространенности мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 у пациентов с неудачей терапии, а также о связи субтипа или рекомбинантных форм вируса с наличием полиморфизмов, ассоциированных с риском лекарственной устойчивости. Также значительным вкладом автора являются новые данные о генетических вариантах ВИЧ-1, в том числе несущих мутации лекарственной устойчивости, в Гвинейской Республике. Данные о встречаемости первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в этой стране обладают несомненной новизной.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Автором получены новые данные о генетических особенностях вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Северо-Западного федерального округа Российской Федерации и Республики Гвинея. Установлено значительное увеличение со временем распространенности мутаций, связанных с лекарственной устойчивостью, в Северо-Западном

федеральном округе, и подтверждено, что именно средний уровень приверженности терапии является критическим фактором возникновения мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1. Кроме того, автором установлена высокая встречаемость мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 среди лиц с впервые выявленной инфекцией, как в Северо-Западном федеральном округе РФ (6%), так и в Республике Гвинея (25%), что позволило рекомендовать внедрение скрининга на лекарственную устойчивость ВИЧ всем пациентам перед назначением антиретровирусной терапии.

Значительным практическим вкладом данного диссертационного исследования является подтверждение эффективности работы отечественной тест-системы для диагностики ВИЧ при исследовании генетических вариантов вируса, отличных от тех, что циркулируют в России, а также создание базы данных для хранения и обработки данных лекарственной устойчивости ВИЧ. Эта база данных может служить полезным инструментом для надзора за распространенностью лекарственной устойчивости ВИЧ. Кроме того, важным практическим результатом работы является получение и депонирование в международной базе данных GenBank 535 нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

Результаты диссертационной работы Щемелева А.Н. опубликованы в 9 статьях в журналах из списка ВАК и/или в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science, доложены на всероссийских и международных конгрессах. Также материалы диссертации вошли в две монографии. Научные публикации полностью отражают содержание диссертационной работы.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные автором результаты свидетельствуют о целесообразности внедрения скрининга на мутации лекарственной устойчивости для всех пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией, как на территории Северо-Западного федерального округа, так и в Республике Гвинея. Разработанная автором база данных может использоваться как инструмент для хранения и обработки массивов данных при диагностике лекарственной устойчивости ВИЧ. В конечном итоге, применение этих подходов будет способствовать оптимизации назначения схем антиретровирусной терапии, что позволит снизить частоту возникновения и распространения лекарственно-устойчивых вариантов ВИЧ.

Структура работы

Диссертация построена по традиционному плану и содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Практические

рекомендации» и «Список литературы». Работа изложена на 138 страницах текста и содержит 26 рисунков и 12 таблиц. Библиографический указатель содержит 193 источника.

Во введении описаны актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, проблемы, на решение которых направлена работа, и сформулированы основные цели и задачи исследования и положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы содержит общие представления о ВИЧ, его эпидемиологии, генетическом разнообразии, проблеме лекарственной устойчивости и методическим подходам к ее диагностике. В разделе «Материалы и методы» автор достаточно полно описывает все использованные в ходе выполнения работы процедуры. Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием современных подходов, включая секвенирование по Сенгеру и биоинформатические методы анализа нуклеиновых последовательностей.

Раздел «Результаты» состоит из трех глав и содержит описание полученных результатов, с последующим подробным анализом полученных результатов в разделе «Обсуждение». В целом, проведенное исследование логично продумано и аккуратно выполнено. Первая глава раздела посвящена молекулярно-генетическому анализу ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неэффективностью антиретровирусной терапии в Северо-Западном федеральной округе. Вторая глава раздела посвящена сравнительному анализу первичной лекарственной устойчивости ВИЧ-1 разных субтипов на основании нуклеотидных последовательностей, выделенных на территории России и Гвинеи. Третья глава посвящена описанию разработки базы для хранения и обработки информации о распространенности лекарственной устойчивости ВИЧ-1.

Автореферат диссертационной работы оформлен в соответствии с требованиями ВАК и полностью отражает содержание диссертации. Публикации по теме диссертации полностью соответствуют ее содержанию и содержат основные результаты работы.

Замечания и вопросы по содержанию работы.

Работа содержит некоторое количество опечаток и несогласованных предложений, что, однако, не критично для восприятия работы. Положительно оценивая диссертационную работу Щемелева А.Н., необходимо, нем не менее, отметить ряд недостатков:

1. Разделы «Научная новизна» и «Теоретическая и практическая значимость» практически дублируют друг друга и написаны в общих словах. При этом работа действительно обладает научной новизной, а также теоретической и практической значимостью.
2. Исследование посвящено ВИЧ-инфекции в двух странах – Российской Федерации и Гвинейской Республике, но обзор литературы не содержит сведений об эпидемиологии ВИЧ-инфекции в Гвинейской Республике, а также

об охвате антиретровирусной терапией как в Гвинейской Республике, так и в России в целом и в Северо-Западном федеральном округе в частности. Однако в цели работы упоминаются территории с низким охватом антиретровирусной терапией.

3. В разделе 1.6 обзора литературы, посвященном распространенности и структуре лекарственной устойчивости ВИЧ на территории РФ и сопредельных государств автор довольно скудно отразил имеющиеся данные, несмотря на значительное количество публикаций по данному вопросу в последние годы в мировой и отечественной литературе.

4. Иллюстративные качества некоторых филогенетических деревьев оставляют желать лучшего. Зачастую на них невозможно отыскать последовательности, обсуждаемые в тексте.

Также при ознакомлении с диссертационной работой возникли несколько вопросов для уточнения:

1. Целью работы являлось изучение спектра и распространенности мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 на территориях с разной генетической структурой вирусной популяции при низком охвате АРТ. Каков критерий низкого охвата АРТ и относится ли СЗФО к территориям с низким охватом АРТ?

2. Наблюдались ли статистически значимые отличия между разными регионами СЗФО по показателям распространенности лекарственной устойчивости?

3. Чем может объясняться довольно небольшая (24%) доля лиц с детектируемой РНК ВИЧ (>500 копий/мл) среди серопозитивных лиц из Гвинеи? Подтверждался ли реактивный в ИФА результат в иммуноблоте? Оценивался ли риск получения ложноотрицательных результатов в этой группе из-за несовпадения праймеров, используемых в тест-системе, с последовательностями циркулирующих в регионе вариантов вируса?

4. В чем заключалась целесообразность разработки новой базы данных по надзору за распространенностью лекарственной устойчивости ВИЧ при наличии Российской базы данных устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам (RU HIV), в которой содержится, судя по ее описанию, 15 884 нуклеотидных последовательностей ВИЧ из 32 учреждений.

5. Представленная в работе база данных содержит поля, предназначенные для персональных сведений (ФИО и т.п.). Каким образом в базе данных предполагается обеспечивать защиту персональных данных пациентов?

Указанные замечания и вопросы не снижают общей положительной оценки данной диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Щемелева Александра Николаевича на тему «Характеристика лекарственной устойчивости ВИЧ-1 на территориях с различающейся генетической структурой вирусной популяции», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объёму проведенных исследований полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским и докторским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.10 Вирусология и 3.3.8 Клиническая лабораторная диагностика.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии вирусных гепатитов отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
доктор биологических наук (1.5.10 Вирусология), профессор РАН
тел.: 8 (495) 974-96-39,
e-mail: karen-kyuregyan@yandex.ru

Кюрегян Карен Каренович

Подпись Кюрегяна К.К. удостоверяю

Ученый секретарь ФБУН "Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии" Роспотребнадзора



Т.С. Никитина