

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Колотвина Андрея Васильевича
«Прогностическая значимость генетического полиморфизма патогена и хозяина для
оценки эффективности терапии и развития фиброза печени при хроническом
гепатите С», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Диссертационная работа Андрея Васильевича Колотвина посвящена выяснению прогностической значимости однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) ряда генов человека и полиморфных особенностей генома вируса гепатита С (ВГС) для оценки эффективности стандартной двойной терапии альфа-интерфероном и рибавирином и скорости развития фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС), принадлежащим к восточнославянскому этносу. Усилия автора увенчались построением многофакторной статистической модели прогноза развития цирроза и успешности стандартной терапии ХГС в зависимости от наличия у пациента определенных аллельных вариантов ряда генов и инфицированности определенным субтипом ВГС.

Разработка генетического подхода к прогнозу эффективности терапии ХГС и скорости развития цирроза представляет большой теоретический и практический интерес. Из литературы известно, что полиморфизм генома ВГС является одним из определяющих факторов прогноза развития инфекции и успешности противовирусной терапии. Кроме того, существуют этнически и генетически обусловленные особенности развития ВГС-инфекции и эффекта противовирусной терапии. Однако имеющиеся данные порой противоречивы, а сведений о влиянии генетического полиморфизма ВГС и ряда генов человека на результаты стандартной противовирусной терапии и развитие цирроза у пациентов с ХГС в России крайне мало. Поэтому проведенное в представленной работе многофакторное генетическое исследование роли ОНП ряда генов человека и генетического полиморфизма ВГС в оценке эффективности терапии гепатита С и прогнозе развития цирроза весьма актуально как в научном, так и в практическом аспекте.

Наиболее перспективными объектами молекулярно-генетического анализа с точки зрения прогноза эффективности терапии и развития цирроза, по мнению автора, являлись: 1) факторы ВГС (генотип/субтип, репликативная активность, набор генетических вариантов, различающихся структурой гипервариабельного участка белка E2), 2) аллельные варианты генов цитокинов IL-1B, IL-6, IL-10, IL28B, TGF-B1 и TNF-A, участвующих в иммунных реакциях, регуляции апоптоза клеток и регенерации тканей, гена белка-регулятора обмена железа (ген гемохроматоза) HFE, генов эндотелиальной NO-синтазы, играющей роль в регуляции сосудистого кровотока в печени, и субъединицы p22phox NADH/NADPH фагоцит-оксидазы, участвующей в развитии окислительного стресса. Исследованная весьма представительная (191 человек) когорта пациентов с ХГС включала лиц, принадлежащих к восточнославянскому этносу, наиболее представительной этнической группе на территории РФ и конкретно Московского региона. Действительно, на этой территории сложно было бы собрать столь же представительную группу пациентов с ХГС с градацией по субтипу ВГС, успешности ответа на терапию и скорости развития фиброза печени, принадлежащую к иному этносу.

Поставленные задачи включали 1) определение прогностической значимости факторов ВГС для оценки эффективности стандартной противовирусной терапии, 2) установление частоты встречаемости аллельных вариантов выбранных генов человека в исследуемой выборке пациентов и сопоставление распределения этих вариантов с эффективностью противовирусной терапии и со скоростью развития фиброза печени, 3) проведение многофакторного анализа сочетаний аллельных вариантов генов пациентов и факторов вируса с эффективностью терапии и скоростью фиброзирования печени.

Научная новизна и практическая значимость работы.

Автором впервые было проведено глубокое и многофакторное исследование влияния факторов ВГС и ОНП пациента на эффективность противовирусной терапии и развитие фиброза печени у представителей восточнославянского этноса. Впервые была выявлена ассоциация аллельных вариантов генов цитокинов: *IL-28B* по локусам rs12979860 C>T, rs8099917 T>G, *TNF-A* (-238 G>A) и *IL-1B* (-511 C>T) с эффективностью противовирусной терапии и скоростью развития фиброза печени в данной выборке пациентов. Впервые показана высокая частота встречаемости гаплотипа C (rs12979860)/T (rs8099917 T>G) гена *IL-28B* у пациентов с ХГС (восточные славяне).

Впервые установлены прогностически значимые закономерности сочетания субтипа вируса и аллельных вариантов генов пациентов (*IL-1B*, *IL-28B*, *TNF-A*, *HFE*) на эффективность терапии и скорость развития фиброза печени в данной выборке пациентов. Впервые разработана прогностическая модель с количественной оценкой данных по полиморфным локусам генов пациента и генотипу/субтипу вируса, позволяющая сделать прогноз эффективности терапии и скорости развития фиброза печени у пациентов восточнославянского происхождения.

Созданная прогностическая модель позволяет рассчитать вероятность достижения устойчивого ответа на противовирусную терапию, оценивая данные анализа ОНП генов цитокинов *IL-1B* (-511 C>T), *IL-28B* (rs12979860 C>T, rs8099917 T>G) и генотипа/субтипа ВГС. Такая же модель позволит спрогнозировать скорость развития фиброза печени у восточных славян по сочетанному анализу ОНП гена *HFE* и генотипа/субтипа ВГС. Данная модель безусловно является **практически значимым вкладом** в развитие современного персонализированного подхода к терапии и прогнозу развития хронической ВГС-инфекции.

Ясно, что представленная работа, хотя и является законченным исследованием, всё же представляет собой только один из этапов, и весьма успешный, молекулярно-генетического исследования влияния факторов вируса и генетических особенностей пациента на развитие и исход ВГС-инфекции и способ и успешность противовирусной терапии. Данная работа вносит заметный вклад в эти исследования.

Можно отметить значительный **личный вклад автора** в проведение **всех этапов работы**; только отдельные эксперименты, требующие высокоспециализированной подготовки и наличия особого допуска к работе, были выполнены совместно с другими исследователями.

Содержание работы.

Работа А.В. Колотвина построена по традиционному плану. Она состоит из

разделов: “Введение”, Главы 1 и 2 обзора литературы, глава 3 - “Материалы и методы”, глава 4 - “Результаты собственных исследований”, глава 5 - “Обсуждение результатов”, “Выводы”, “Список литературы”. Работа изложена на 173 страницах машинописного текста и включает 36 рисунков и 32 таблицы; список цитируемой литературы содержит 23 отечественных и 243 иностранных источника. Во введении автор четко формулирует научные и практические проблемы, на решение которых направлены проводимые им исследования, их актуальность и приоритетность, цель и задачи работы, определяет научную новизну и практическую значимость своего исследования и получаемых результатов.

Обзор литературы полностью соответствует теме работы. Он написан на высоком научном уровне и свидетельствует о свободной ориентации автора в вопросах, связанных с темой работы. Автор рассматривает два основных вопроса: характеристика ВГС и особенности течения ВГС-инфекции и характеристика исследуемых генов и ОНП в них, способных влиять на эффективность противовирусной терапии и скорость фиброобразования печени. Судя по обзору литературы, автор хорошо владеет темой исследования, знаком с наиболее значимыми работами других авторов в этой области.

Глава 3 «Материалы и методы» представляет использованные автором методики экспериментов, использованные тест-системы и приборы, приводится подробная характеристика выбранной когорты пациентов с ХГС и условия деления на группы в зависимости от генотипа/субтипа вируса, ответа на стандартную противовирусную терапию и скорости развития фиброза печени. Материалы и методы изложены четко и полно; это позволяет (при необходимости) воспроизвести проведенные исследования и провести новые с использованием того же арсенала методов и тест-систем с целью обеспечения сравнимости результатов, что весьма ценно.

В главе 4 «Результаты собственных исследований» представлены полученные автором результаты экспериментов, а в главе 5 «Обсуждение результатов» приводится их обобщение и характеристика разработанной автором многофакторной прогностической модели. Четкое и логичное описание собственных результатов автора хорошо иллюстрировано рисунками и таблицами. Полученные результаты сопоставляются с результатами других авторов, проводятся аналогии, анализируются и обосновываются расхождения, вызванные главным образом выбором пациентов различных этнических групп. Работа логично спланирована и выполнена очень тщательно, добротнo, что не оставляет сомнений в достоверности представленных результатов. Стоит отметить грамотную и тщательную статистическую обработку результатов исследования.

В целом диссертация написана очень логично, понятным языком. Выводы четко и полностью отражают полученные результаты. Результаты диссертации опубликованы и обсуждались на представительных научных конференциях.

Замечания к диссертационной работе.

Работа, будучи в целом основательной, не лишена некоторых погрешностей.

Так, известно, что инфицирование субтипом ВГС 3а часто связано с внутривенным введением наркотиков. Последнее, хотя не является генетическим фактором пациента,

может внести свой вклад в эффективность терапии и в ход развития заболевания. К сожалению, этот аспект в работе никак не обсуждается.

В тексте диссертационной работы и автореферата достаточно много опечаток, что иногда затрудняет чтение и понимание текста; так, номер 8 (диссертация) присвоен трем разным рисункам. Имеются жаргонные выражения, например, «форез» вместо «электрофорез». Присутствуют неудачные выражения. Так, например, на с. 111 диссертации фразу «Для пациентов, инфицированных первым генотипом вируса, характерны статистически значимые различия во встречаемости генотипа СС по локусу (rs12979860) гена IL28B» можно понять как утверждение о влиянии аллели IL28B на инфицируемость определенным генотипом вируса. В выводе 1 явно пропущено слово «соотношения» («Подтверждена динамика изменения (соотношения) субтипов 1b и 3a в Московском регионе»).

Однако указанные выше замечания не снижают в целом высокой оценки представленной работы. Диссертационная работа Колотвина Андрея Васильевича является оригинальным законченным научным исследованием, направленным на решение актуальной проблемы, в котором получены новые научные результаты, имеющие практическую значимость. Работа выполнена с применением арсенала современных методов исследования. Автореферат диссертации полностью отражает изложенный в тексте диссертационной работы фактический материал.

Таким образом, диссертационная работа «Прогностическая значимость генетического полиморфизма патогена и хозяина для оценки эффективности терапии и развития фиброза печени при хроническом гепатите С» по актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полностью отвечает требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденных постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор, Колотвин Андрей Васильевич, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Руководитель лаборатории пептидной инженерии ИБМХ
доктор биологических наук, профессор

Е.Ф. Колесанова

22.09.2014 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ)
119121, Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 8.

Электронная почта: ekaterina.kolesanova@ibmc.msk.ru

Подпись г.б.н. проф. Колесанова
заверено
Ученый секретарь ИБМХ

