

ОТЗЫВ

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

Вирусный гепатит С представляет серьезную угрозу здоровью инфицированных людей в нашей стране, поскольку нет высокоэффективной и финансово доступной терапии, нет профилактической вакцины и часто постановка диагноза приходится на поздние стадии болезни из-за скрытого течения инфекции. Представленная работа посвящена генетическим аспектам взаимодействия вируса гепатита С и организма человека. Широкое внедрение молекулярно-биологических методов практически во все естественнонаучные дисциплины привело к настоящему прорыву в современной биологии и медицине. Сегодня сложно представить себе завершённое исследование в области микробиологии, фармакологии и, конечно, медицинской вирусологии без анализа молекулярно-генетических основ взаимодействия и регуляции живых систем. Более того, с завершением проекта «Геном человека» число и качество таких исследований увеличились многократно. Расширились представления о структурно-функциональной организации генома человека, и появилась принципиально новая возможность оценки роли генетического аппарата в формировании устойчивости и восприимчивости человека к возбудителям социально значимых инфекций, в число которых входит вирусный гепатит С.

Наиболее перспективным маркером врожденной предрасположенности человека к воздействию инфекционных факторов считается однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) – один из наиболее распространенных типов генетических вариаций в геноме человека. Такая «популярность», в первую очередь обусловлена их эволюционной стабильностью, которая при относительно небольшом вкладе конкретного полиморфизма в проявление того или иного признака обеспечивает его широкое распространение в популяциях. На сегодняшний день известно около 10 миллионов ОНП, лишь небольшая часть которых (около 1%) имеет подтвержденную ассоциацию с тем или иным признаком.

Изучение взаимосвязи между генетическим профилем пациентов (определенной этнической группы) по ряду генов, полиморфными особенностями генома ВГС и особенностей течения ВГС-инфекции и составило предмет предпринятого соискателем исследования, актуальность последнего очевидна.

Из автореферата соискателя видно, что структура диссертации традиционна: она состоит из введения, обзор литературы, материалов и методов, результатов исследования, обсуждения и выводов. Диссертант довольно подробно показывает актуальность и научную новизну своей диссертационной работы, описывает объект и методы исследования, цели и задачи исследования, приводит данные о практической ценности результатов, области их применения. Задачи диссертационной работы соответствуют поставленной цели, сформулированы четко и последовательность их решения логически обоснована.

В разделе «Основное содержание работы» подробно изложены принципы формирования групп пациентов, молекулярно-генетические методы анализа вируса и ОНП пациентов и приемы статистической обработки результатов. В работе использованы современные методы выявления РНК ВГС, генотипирования вируса, определения межгенотипной рекомбинации, вирусной нагрузки, количества квазивариантных форм. Молекулярно-генетические методики включали выделение геномной ДНК пациентов, определение аллельных вариантов генов пациентов, обработку данных различными статистическими методами и многофакторный анализ.

Важный аспект работы касается роли самого вируса в динамике развития и тяжести проявления инфекции. Колотвиным А.В. на разных группах пациентов исследованы ассоциации форм течения инфекции и ответа на терапию с учетом разных генотипов вируса. Параллельно выполнен ретроспективный анализ структуры лидирующих генотипов/субтипов ВГС. Показано преобладание ВГС генотипов 1 и 3, подтверждена тенденция к постепенному увеличению частоты встречаемости субтипа 3а, что в принципе не ново, но выполнено на большой выборке пациентов. Анализируя влияние генетических факторов вируса (генотип, репликативная активность, количество квазивариантов по 1-му гипервариабельному региону) на эффективность ПВТ, соискателем было показано, что наиболее важным является генотип вируса. Интересно отметить, что пациенты, инфицированные вирусом субтипа 3а, не имели ассоциации с более частым достижением стойкого вирусологического ответа при терапии. Хотя ранее этот субтип рассматривался как более благоприятный, чем другие. Но в последнее время, отношение к этому субтипу меняется. Соискателем показана корреляция частоты встречаемости аллельных вариаций генов цитокинов *IL-1B* и *IL28-B* с эффективностью ПВТ. Здесь надо подчеркнуть, что публикация статьи соискателя о влиянии ОНП гена *IL28-B* на эффективность двойной терапии сделана в начале 2011 г. Первая в мире публикация была осуществлена в 2009 г. Таким образом, соискатель в нашей стране был одним из первых авторов такого актуального исследования.

Анализируя генетические полиморфные факторы ВГС и пациентов соискатель делает вывод, что для больных восточнославянского происхождения неблагоприятный результат ПВТ ассоциирован со следующими факторами: инфицированием ВГС первого генотипа, отсутствием у пациента аллельных вариантов СС и ТТ по локусам rs12978860 и rs8099917 гена *IL-28B* и наличием генотипа ТТ в локусе (-511) гена *IL-1B*.

При анализе влияния генетических факторов ВГС и хозяина на развитие фиброза печени Колотвин А.В. показал достоверно значимую ассоциацию между вирусом субтипа 3а и медленной скоростью развития фиброза печени, и субтипом 2а – и умеренной скоростью. С высокой, умеренной и медленной скоростью развития фиброза взаимосвязаны и определенные ОНП генов *IL1-B*, *TNF-A*, *TGF-B1*, *p22phox*. Сопоставление полученных данных позволило автору выявить генетические факторы вируса и пациентов, которые связаны с более частым формированием цирроза печени у пациентов определенной этнической группы (восточные славяне).

Диссертантом была построена прогностическая модель (после многофакторной статистической обработке всего комплекса данных) с системой условных баллов. Она наглядно демонстрирует негативное влияние минорных аллелей генов *IL-1B*, *IL-28* на эффективность ПВТ независимо от генотипа вируса. Эта модель также была использована для прогнозирования скорости развития фиброза печени. С появлением хотя бы одной минорной аллели по этим генам *TNF-A* и *HFE* вероятность быстрого формирования фиброза печени возрастала. Данная модель демонстрирует, что для ВГС субтипов 3а и 1b наличие у пациента гетерозиготности по аллелям генов *TNF-A* и *HFE* приводит к быстрому развитию фиброза, для пациентов с субтипом 2а или 3а аналогичную роль выполняет аллельная вариация ТТ гена *IL-1B*, любого субтипа вируса - аллельная пара GA гена *TNF-A*.

В целом, изложение логически связано, результаты наглядно демонстрируются рисунками и таблицами.

В разделе «Обсуждение» соискателем достаточно хорошо проанализированы результаты исследования и сопоставлены с данными других авторов. Выявленные различия диссертант относит к этническим особенностям исследованных групп пациентов, что не вызывает сомнения.

В целом, полученные автором результаты и их обсуждение не вызывают замечаний. Однако в оформлении автореферата существуют отдельные недостатки: опiski и пунктуационные ошибки, желательно было бы рис. 1 представить в первом

предложении раздела «Результаты исследования и их обсуждение». Однако отмеченные недостатки не носят принципиального характера и не снижают общей положительной оценки диссертации.

Работа Колотвина А.В. представляет собой экспериментальное исследование высокого уровня, выполненное с использованием современных методов и полностью оригинальное. Следует отметить научную ценность диссертационной работы и перспективы использования ее результатов в медицинской практике. Сделанные в диссертации выводы обоснованы и адекватны полученным результатам. Основные положения диссертации были доложены на отечественных и зарубежных конференциях и опубликованы в рецензируемых научных изданиях.

Результаты диссертации доложены на представительных конференциях и отражены в публикациях в ведущих отечественных журналах. Их достоверность, а также обоснованность выводов работы не вызывают сомнения. Автореферат диссертации А.В. Колотвина соответствует требованиям ВАК РФ и полностью отражает содержание диссертационной работы.

Диссертационная работа Колотвина Андрея Васильевича является научной квалификационной работой и соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, указанным в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденной Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Научный сотрудник
лаборатории неспецифической профилактики
инфекционных заболеваний
Федерального государственного бюджетного учреждения
Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России
к. м. н.
123098 Москва ул. Гамалеи 18, +79160728379, Yarosh.Lyudmila@inbox.ru

Л.В. Ярош

Подпись Л.В. Ярош заверяю.

Ученый секретарь, к.м.н.

Л.К. Кожевникова

