

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук Останковой Юлии Владимировны на диссертационную работу Антоновой Анастасии Александровны «Рекомбинантные формы ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. «Вирусология»

Актуальность темы диссертационной работы

Интерес к представленной в диссертационной работе проблеме связан с тем, что по состоянию на 2021 год в мире насчитывалось более 38 миллионов человек, живущих с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), а эпидемия ВИЧ остается самой разрушительной в истории человечества, несмотря на комплексные профилактические мероприятия. Вирусы, ответственные за эту глобальную пандемию, распространяющуюся из Центральной Африки, классифицируются по девяти филогенетически различным субтипам (AD, FH, J и K), нуклеотидные последовательности которых отличаются друг от друга на 25-35%, суб-субтипам (A1, A2, F1 и F2), отличие между которыми составляет 15-20%. Существующие геноварианты могут рекомбинировать, приводя к появлению новых форм, классифицируемых как циркулирующие рекомбинантные формы (CRF) и уникальные рекомбинантные формы (URFs). Распространение субтипов и рекомбинантных форм в эпидемии ВИЧ 1-го типа (ВИЧ-1) очень динамично: её современный этап представлен смесью рекомбинантов, возникших на ранних этапах глобальной эпидемии, и других, более позднего происхождения. Все они способствуют созданию более сложных рекомбинантных форм, которые в дальнейшем внесут свой вклад в динамику глобальной популяции ВИЧ-1.

Первые эпидемии ВИЧ в Российской Федерации начались среди потребителей инъекционных наркотиков (ПИН), а выявляемые при этом изоляты характеризовались как сравнительно однородные варианты суб-субтипа A1, отличающегося от других вариантов субтипа A, имеющих, впрочем, низкую распространенность в мире. Впоследствии данный геновариант ВИЧ получил обозначение IDU-A (от Injecting Drug Users) или AFSU в соответствии с

географическим ареалом (от former Soviet Union countries), а несколько лет назад при пересмотре номенклатуры этот уникальный вирус выделили в отдельный суб-субтип ВИЧ А6. Вторым геновариантом ВИЧ, получивший распространение в этом регионе после эпидемий, суб-субтип В, обозначаемый как IDU-В или BFSU и относящийся к монофилетической кладе, также отличается от последовательностей субтипа В, циркулирующих в Западной Европе. Однако есть регионы, где преобладающим вариантом вируса являются не А6 и В, а различные рекомбинантные формы, включающие как CRF, так и URF. Можно предположить, что процесс образования всё более сложных рекомбинантных форм окажется основным направлением эволюционного развития вируса в некоторых регионах Российской Федерации.

Введение высокоактивной антиретровирусной терапии (АРТ), главной целью которой является подавление репликации вируса, значительно улучшает прогноз для ВИЧ-инфицированных пациентов, снижает смертность и количество осложнений, связанных с ВИЧ, увеличивает выживаемость пациентов. Однако, несмотря на резкое улучшение показателей ВИЧ / СПИДа после введения АРТ, лекарственная резистентность вируса остается серьезной угрозой устойчивому воздействию антиретровирусных препаратов во всем мире. Изменения генома ВИЧ за счет рекомбинации способны ускорять появление фармакорезистентности вируса, в том числе множественной, за счет группировки ряда мутаций в одном геноме. Такие геноварианты вируса могут стать источником распространения ВИЧ с множественной лекарственной устойчивостью, что, в свою очередь, приведет к повышению частоты устойчивых к терапии штаммов вируса среди лиц, не получавших ранее лечения.

Наиболее полная информация о разнообразии рекомбинантных форм в Российской Федерации необходима для понимания структуры лекарственной устойчивости, так как влияние ассоциированных с ней мутаций на приспособленность вируса может быть неодинаковой для разных субтипов, причём рекомбинантные формы могут сочетать в своём геноме наиболее удачные паттерны мутаций, что позволит ВИЧ с большей эффективностью

противостоять антиретровирусной терапии.

Таким образом, диссертационное исследование, направленное на выявление и детальный анализ рекомбинантных форм ВИЧ-1 на территории Российской Федерации в период с 2011 по 2020 год, является несомненно актуальным и своевременным.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа Антоновой А.А. представляется значительным вкладом в отечественное здравоохранение и науку, так как преумножает знания об эпидемии ВИЧ-инфекции на территории Российской Федерации, о тенденциях ее развития, а также о молекулярно-генетическом разнообразии вируса на территории нашей страны, что, в свою очередь, позволяет разработать стратегии мониторинга ВИЧ-инфекции и повышения эффективности применяемой антиретровирусной терапии, особенно у лиц, не получавших ранее лечения, но инфицированных фармакорезистентными штаммами.

Соответствие диссертации Паспорту научной специальности

Диссертация Антоновой А.А. по цели, задачам, методическому подходу и полученным результатам соответствует пунктам 4, 8 и 10 Паспорта номенклатуры специальностей ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации по специальности 1.5.10. «Вирусология».

Научная новизна темы исследования и полученных результатов

Новизна данной диссертационной работы не вызывает сомнений. Крупномасштабное исследование автором более трех тысяч генетических вариантов ВИЧ-1, циркулировавших на территории Российской Федерации в 2011–2020 годах, позволили по-новому взглянуть на проблему распространения в стране рекомбинантных штаммов вируса, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью. Отдельного внимания заслуживает детальный анализ структуры генома вируса с определением точек рекомбинации для выявленных на территории России URF ВИЧ-1. Настоящее исследование позволило обнаружить достоверные отличия мутационных профилей

рекомбинантных форм от «чистых» субтипов вируса.

Оценка характера резистентности ВИЧ-1 в зависимости от геноварианта, в том числе у пациентов, инфицированных первично устойчивыми штаммами ВИЧ-1 рекомбинантных форм, крайне интересны и важны для вирусологов, специалистов клинической лабораторной диагностики, эпидемиологов, инфекционистов.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы (полученных автором результатов)

Описанное автором многообразие субтипов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Российской Федерации, включая CRF и URF, а также убедительная демонстрация связи рекомбинантных форм и субтипов с мутационными профилями лекарственной устойчивости вируса, существенно дополняют имеющиеся на сегодняшний день представления о развитии эпидемии ВИЧ-инфекции в стране. Полученные результаты позволяют дать прогностическую оценку эффективности используемых в настоящее время схем антиретровирусной терапии как для уже получающих АРТ лиц, так и для тех, кто ранее не получал лечение. Определение категорий индивидуумов, потенциально влияющих на распространенность первично устойчивых рекомбинантных форм ВИЧ-1, позволит с большим вниманием и пониманием относиться к этим когортам при мониторинге путей передачи вируса.

Несомненную практическую значимость имеет депонирование проанализированных нуклеотидных последовательностей исследованных образцов в международную базу GenBank.

Рекомендации по использованию результатов работы и выводов диссертации

Полученные результаты рекомендуется внедрить в учебные процессы учреждений, готовящих научные и научно-педагогические кадры по направлениям «вирусология», «эпидемиология», «инфекционные болезни».

Нуклеотидные последовательности фрагментов генома ВИЧ-1, полученные в рамках настоящего исследования и депонированные в международную базу

GenBank, рекомендуется использовать для сравнительного филогенетического анализа при популяционных и когортных исследованиях ВИЧ-1 в различных регионах как Российской Федерации, так и других стран.

На основании полученных результатов работы и выводов диссертации рекомендуется включить в национальные клинические рекомендации анализ на определение генотипа ВИЧ-1 и выявление мутаций лекарственной устойчивости вируса до начала терапии в группах риска, а также для всех выявленных ВИЧ-инфицированных лиц в регионах с наибольшей распространенностью рекомбинантных форм вируса.

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

Достоверность и обоснованность полученных результатов подтверждается детальным теоретическим анализом проблемы, достаточным объемом исследований, включающим молекулярно-генетические исследования 3178 образцов, проведенных для достижения поставленной цели. Задачи, поставленные в работе, соответствуют цели исследования. Сформулированные автором выводы по результатам исследования полностью согласуются с приведенным в диссертации фактическим материалом. Автором применены современные сложные молекулярно-биологические методы, обосновано использованы адекватные методы статистического анализа.

Личный вклад автора в разработку научной проблемы

Личный вклад автора заключался в разработке методологии исследования, а также непосредственно в анализе полученных данных, в том числе филогенетический и рекомбинационный анализ, анализ фармакорезистентности ВИЧ-1, анализ и обсуждение результатов. Клинико-лабораторная часть работы (Выделение РНК ВИЧ-1 или провирусной ДНК, реакция обратной транскрипции, ПЦР, очищение продуктов амплификации и секвенирующей реакции, секвенирование) выполнялись автором лично, а также совместно с сотрудниками лаборатории вирусов лейкозов подразделения «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи»

Минздрава России.

Общая структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Антоновой Анастасии Александровны построена по традиционной схеме, изложена на 147 страницах машинописного текста и содержит следующие структурные элементы (главы): введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, а также список сокращений и условных обозначений, список литературы и два приложения.

Диссертационная работа иллюстрирована 11 таблицами и 147 рисунками. Список литературы содержит 200 источников, из которых 14 отечественных и 186 – зарубежных авторов.

Во введении диссертационной работы Антонова А. А. обосновывает актуальность и новизну темы исследования, описывает степень ее разработанности. Также автор отражает основную цель и задачи своего исследования, обосновывает теоретическую и практическую значимость работы, описывает методологию исследования, формулирует основные положения, выносимые на защиту, обосновывает степень достоверности полученных результатов, представляет информацию об их апробации и личном вкладе в работу.

В Главе 1 «Обзор литературы» Антонова А. А. раскрывает основные этапы изучения ВИЧ-инфекции в мире, дает полную характеристику вируса иммунодефицита человека первого типа и описывает его генетическое разнообразие. Автор диссертационной работы также описывает проблему лекарственной устойчивости ВИЧ-1 и ее связи с рекомбинационными процессами в популяции вируса. Данная глава написана с анализом современной литературы, повествование логично и научно обоснованно.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» содержит подробное описание объекта и материала исследования и используемых молекулярно-биологических, биоинформатических и статистических методов исследования.

Глава 3 «Результаты собственных исследований» включает подробное описание всех полученных автором результатов.

В Разделе 3.1 приведена подробная характеристика ВИЧ-инфицированных пациентов, включенных в исследование. Стоит отметить размер выборки (более 3000 пациентов), способной обеспечить репрезентативность и географическое разнообразие (7 федеральных округов РФ).

В Разделе 3.2 описаны результаты молекулярно-генетического анализа исследуемых образцов ВИЧ-1, в частности, их субтипная принадлежность (п. 3.2.2).

В Разделе 3.3 описаны результаты анализа выявленных на территории Российской Федерации рекомбинантных форм ВИЧ-1, в том числе результаты их филогенетического анализа и детального анализа уникальных рекомбинантных форм, а также проведена оценка распространенности рекомбинантов на современном этапе эпидемии. По результатам исследования Антоновой А. А. было выявлено 275 рекомбинантных форм ВИЧ-1, при этом порядка 32% из них составили уникальные рекомбинанты, для которых был проведен детальный анализ структуры генома с определением точек рекомбинации. По результатам филогенетического анализа рекомбинантных форм ВИЧ-1 были выявлены как единичные случаи их заноса, так и множественные случаи передачи внутри страны. Было выявлено достоверное увеличение частоты встречаемости вирусов рекомбинантных форм на территории Российской Федерации в период с 2011 по 2020 год, а также определены федеральные округа РФ с наибольшей распространенностью ВИЧ-1 рекомбинантных форм.

В Разделе 3.4 представлены результаты анализа мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 и их связи с субтипом. Автором были выявлены субтипспецифичные мутации и установлено, что распространенность первичной лекарственной устойчивости в 1,3 раза выше у вирусов рекомбинантных форм, чем у «чистых» субтипов, и составляет 11,4%. Проведен анализ когорты пациентов, инфицированных первично устойчивыми ВИЧ-1 рекомбинантных

форм.

Все полученные результаты подробно изложены в тексте диссертационной работы и проиллюстрированы соответствующими таблицами, графиками и рисунками.

В Главе 4 проведено детальное обсуждение полученных автором результатов исследования и их сравнение с результатами исследований мирового научного сообщества.

Работа завершается 7 выводами, соответствующими задачам исследования и отражающими суть проведенных исследований.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с необходимыми требованиями, отражает основное содержание работы и научных публикаций автора, раскрывает все основные положения, выносимые на защиту.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

По результатам диссертационной работы опубликовано 9 научных трудов, из них – 4 статьи в научных изданиях, рекомендованных ВАК, 3 статьи в зарубежных изданиях и 2 тезиса в сборниках материалов всероссийских и международных конференций, симпозиумов и съездов. Опубликованные работы соответствуют основным результатам и положениям текста диссертационной работы.

Достоинства и недостатки диссертационной работы

К несомненным достоинствам диссертационной работы следует отнести огромный объем исследуемого материала, современные молекулярно-биологические методы, используемые в ходе анализа, а также комплекс биоинформатических методов анализа с применением ряда программ и баз данных.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационной работы Антоновой Анастасии Александровны не имею.

При ознакомлении с диссертационным исследованием возникают

следующие вопросы, не носящие, впрочем, критического характера и не снижающие общего достоинства работы:

1. В работе были использованы коллекции моноклеарных клеток периферической крови (лимфоцитов) 613 ВИЧ-инфицированных лиц, коллекции плазмы крови 2502 пациентов и коллекция замороженной цельной крови от 63 пациентов федеральных и региональных Центров СПИД. С чем связано такое разнообразие анализируемого в работе материала?

2. В каких случаях использовали для работы вирусную РНК, а в каких провирусную ДНК? Было ли это связано с низкой вирусной нагрузкой в последнем случае?

3. Количество проанализированных образцов из Центрального федерального округа (1247 образцов) значительно выше, чем из любого другого региона (от 206 из Северо-Западного федерального округа до 555 из Южного федерального округа). Как вы считаете, при увеличении объемов выборок картина распространенности генотипов, рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 изменится по сравнению с полученными вами результатами?

4. Среди городов, из которых был получен материал, отсутствует Калининград, где, как известно, доминируют рекомбинанты между генотипами А и В, составляя до 74 % всех случаев. Возможно, если бы в исследование включили этот регион, общая частота рекомбинантных форм в Российской Федерации оказалась бы выше, чем в представленных выводах?

Заключение

Диссертационная работа Антоновой Анастасии Александровны, выполненная под руководством доктора биологических наук Бобковой Марины Ридовны, на тему «Рекомбинантные формы ВИЧ-1 на современном этапе эпидемии в Российской Федерации», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. «Вирусология», является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная, с точки зрения общественного здравоохранения, проблема – изучены

особенности циркуляции ВИЧ-1 рекомбинантных форм и их связь с передающейся лекарственной устойчивостью на современном этапе эпидемии в Российской Федерации, что имеет существенное значение как для вирусологии, так и для эпидемиологии.

Представленная Антоновой А. А. диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции постановлений Правительства РФ № 723 от 30 июля 2014 г., № 335 от 21 апреля 2016 г., № 748 от 02 августа 2016 г., № 650 от 29 мая 2017 г., № 1024 от 28 августа 2017 г., № 1168 от 01 октября 2018 г., № 426 от 20 марта 2021 г., № 1539 от 11 сентября 2021 г., № 1690 от 26 сентября 2022 г., № 101 от 26 января 2023 г., № 415 от 18 марта 2023 г.), а ее автор Антонова А.А. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. «Вирусология».

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии,
заведующая лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции
ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека

08.09.2023 г.



Останкова Ю.В.

Адрес: 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14

Тел. +7 (921) 353-81-73

Email: shennal@yandex.ru

Подпись к.б.н. Останковой Ю.В. заверяю

Заместитель директора по научной работе Дедков В.Г.

