

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук Канестри Вероники Геннадиевны на диссертационную работу Ожмеговой Екатерины Никитичны «Лекарственная устойчивость ВИЧ-1 на территории Российской Федерации в период с 2002 по 2020 гг.», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. «Вирусология»

Актуальность темы выполненной работы

ВИЧ-инфекция остается одной из самых актуальных проблем современного здравоохранения как в мире, так и в России, где количество официально зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции уже превысило 1,5 млн. человек, а темпы роста заболеваемости являются одними из самых высоких. В нашей стране ВИЧ-инфекция вышла за пределы уязвимых групп населения и активно распространяется в общей популяции.

Снизить уровень заболеваемости и смертности от ВИЧ/СПИДа в настоящее время возможно только благодаря массовому применению комбинаций антиретровирусных препаратов, используемых с конца 90-х годов прошлого века. В связи с постоянным увеличением охвата антиретровирусной терапией (АРТ) и высокой изменчивостью ВИЧ растет частота возникновения лекарственной устойчивости (ЛУ) как приобретенной, так и переданной. Кроме того, в России имеет место ряд факторов, способствующих увеличению распространенности ЛУ. К основным причинам риска неэффективности АРТ можно отнести плохую приверженность лечению, широкое применение препаратов с низким генетическим барьером резистентности и сравнительно редкое использование комбинированных форм препаратов.

Изучение ЛУ ВИЧ имеет огромную актуальность в области медицины и общественного здравоохранения, так как знание закономерностей возникновения резистентности открывает пути для разработки новых антиретровирусных

препаратов, модификации существующих лекарств, а также для создания более эффективных стратегий лечения. Научные данные о мутациях, ассоциированных с ЛУ, позволяют врачам-инфекционистам принимать обоснованные решения при назначении лекарств и выборе схем терапии, которые наилучшим образом воздействуют на штаммы ВИЧ, распространенные в конкретном регионе. Поэтому регулярный надзор за частотой возникновения и распространения ЛУ ВИЧ в РФ необходим для минимизации передачи ВИЧ-инфекции, снижения риска распространения мутаций ЛУ, уменьшения стоимости, повышения эффективности схем АРТ и сокращения числа летальных исходов среди людей, живущих с ВИЧ. Для оценки распространенности ЛУ в РФ проводились различные исследования, однако в большинстве случаев выборка была небольшая. Результаты проведенных исследований сложно сравнивать между собой, так как они были выполнены на образцах от разных когорт пациентов, использованы разные методы и способы интерпретации результатов.

Исходя из вышеизложенного, актуальность представленной диссертационной работы не вызывает сомнений.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа Ожмеговой Екатерины Никитичны на тему «Лекарственная устойчивость ВИЧ-1 на территории Российской Федерации в период с 2002 по 2020 гг.» выполнена по плану научно-исследовательских работ лаборатории вирусов лейкозов подразделения «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Настоящее исследование является значимым в рамках науки и практического здравоохранения в виду того, что на основании проведенной работы получены новые данные, касающиеся ЛУ ВИЧ-1 на территории России, дополнившие

существующие представления о развитии резистентности, которые смогут оказать влияние на разработку новых стандартов тестирования ЛУ ВИЧ, корректировку клинических рекомендаций по лечению и диспансерному наблюдению больных ВИЧ-инфекцией и сделать существенный вклад в развитие персонализированной медицины в РФ.

Диссертация Ожмеговой Е.Н. соответствует пунктам 4, 8 и 10 Паспорта номенклатуры специальностей ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации по специальности 1.5.10. «Вирусология».

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов обеспечена репрезентативным общим объемом выборки обследованных пациентов и фактического материала, применением современных молекулярно-биологических, биоинформационных методов исследования, методов статистической обработкой полученных результатов, а также подтверждены публикациями по теме диссертации.

Научная новизна исследования состоит в том, что:

- впервые проведено масштабное исследование, посвященное оценке как приобретенной, так и первичной ЛУ, затрагивающей различные регионы РФ;
- впервые показана динамика изменчивости ЛУ на протяжении 18 лет и оценены спектр и частота встречаемости мутаций ЛУ у пациентов, испытавших неуспех лечения, а также пациентов, которые только начинают первую линию терапии;

Сформулированные автором положения и выводы получены на основании анализа достаточного для кандидатской диссертации фактического материала (3023 образца крови больных ВИЧ-инфекцией из 7 ФО РФ) и соответствуют содержанию диссертации.

Автором даны рекомендации по расширению охвата генотипированием как у пациентов, начинающих АРТ, так и у больных с опытом терапии, а также по оптимизации схем АРТ на уровне РФ.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Значимость работы в научном аспекте заключается в получении систематизированной информации, позволяющей лучше понять механизмы устойчивости, а также определить приоритеты дальнейших исследований. Полученные в ходе диссертации данные помогут расширить знания и разработать новые стратегии по контролю распространения резистентных штаммов и улучшению результатов лечения. Проведенный мониторинг индикаторов раннего предупреждения (ИРП) вскрывает существующие проблемы, способствующие дальнейшему распространению эпидемии ВИЧ-инфекции, а также ЛУ штаммов ВИЧ в России, и указывает на точки приложения целевых вмешательств.

В прикладном аспекте значимость работы состоит в обосновании рекомендации о необходимости применении генотипирования ВИЧ для оптимального подбора антиретровирусных препаратов. Кроме того, выявление регионов с отчетливой тенденцией к росту определенных мутаций ЛУ ВИЧ позволит скорректировать наиболее часто назначаемые схемы АРТ в этих географических областях, что позволит снизить долю переданной и приобретенной резистентности.

Личный вклад автора

Автор самостоятельно выполнила исследование, начиная с проведения работ по выделению, амплификации и секвенированию ДНК/РНК от 1200 пациентов с ВИЧ-инфекцией и заканчивая проведением анализа полученных результатов с последующими публикациями 7 печатных работ и написанием собственно диссертационной работы.

Конкретные рекомендации по использованию результатов работы и выводов диссертации

Обобщение полученных результатов позволило автору сформулировать следующие практические рекомендации:

1. В связи с распространённостью резистентности более 10% рекомендуется проводить генотипирование для определения лекарственной устойчивости у пациентов, которые только начинают первую линию терапии в Уральском и Сибирском федеральных округах.

2. Рекомендуется оптимизировать клинические рекомендации по лечению ВИЧ-инфекции в пользу препаратов с более высоким генетическим барьером резистентности.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность

Структура и содержание диссертации продиктованы целью и задачами настоящего исследования. Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 163 листах машинописного текста, подкреплённых 19 таблицами и иллюстрированными 41 рисунком. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, перечня условных обозначений, библиографического списка литературы, включающего 155 источников, в том числе 25 отечественных и 130 зарубежных, а также 2 приложений.

Во введении автор логично и грамотно обосновывает актуальность работы, научную новизну и практическую значимость. Цель и поставленные задачи четко сформулированы согласно теме диссертации.

В обзоре литературы подробно представлен анализ современных данных по теме научной работы. В разделе, посвященном структуре, жизненному циклу и патогенезу ВИЧ-1, автор приводит подробную информацию, касаемо строения вириона и генома ВИЧ-1, описаны функции ферментов, являющиеся основными мишенями АРТ. В разделе, описывающем основные понятия лекарственной устойчивости приведены подробно механизмы действия препаратов, входящих в схемы АРТ и пути ускользания вируса от действия этих препаратов. Показана текущая ситуация с ЛУ ВИЧ-1, приведены другие исследования, посвященные

данной тематике. Оценивая литературный обзор, необходимо отметить, что он основывается на современных научных источниках, изложен логично и позволяет получить достаточно полную информацию о состоянии вопросов, изучаемых автором. К замечаниям по обзору литературы хотелось бы отнести излишне подробное описание имеющихся знаний по вопросам, напрямую не относящимся к теме диссертации, например структура, жизненный цикл вируса и патогенез ВИЧ-инфекции. В некоторых разделах присутствуют повторы, касающиеся значимости некоторых мутаций в формировании ЛУ ВИЧ (например, информация о мутации M184V). В параграфе, описывающем ЛУ к ННИОТ нет упоминания о новом отечественном препарате элсульфавирин, в то же время целый параграф посвящен классу ингибиторов интегразы, резистентность к которым не исследовалась в данной работе.

В главе 2 представлены материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования выступили 3023 больных ВИЧ-инфекцией, которых автор разделил по федеральным округам, областям и крупным мегаполисам, что дает представление о масштабе проделанной работы. В диссертации использованы современные молекулярные и биоинформационные методы по генотипированию ВИЧ и идентификации мутаций ЛУ, а также методы, используемые для статистического анализа полученных результатов. На этапе данной главы не совсем ясен был дизайн исследования, не было критериев включения в исследование, которые автор перенес в следующую главу, а также упоминания об анкетировании по ИРП.

В третьей главе автором приведены результаты собственных исследований, подробно иллюстрированные таблицами и рисунками. Описание результатов исследования сопровождается интерпретацией полученных данных. Автор провел подробный анализ в 2-х группах: среди пациентов с опытом приема АРТ, имеющих ее неэффективность, и среди больных, не получавших лечения на момент включения в работу. За все время исследования 55% пациентов с вирусологической

неэффективностью приобрели ЛУ, при этом наиболее часто определялись мутации к классам НИОТ и НШИОТ, что объясняется широко используемыми схемами АРТ с включением препаратов этих классов. Среди всех обследованных пациентов без опыта АРТ хотя бы одна мутация ЛУ была обнаружена у 7,9% пациентов, что свидетельствует о пока еще низком уровне ЛУ в России.

Хотелось бы подчеркнуть, что автором был проведен очень скрупулезный анализ встречаемости мутаций как к целым классам препаратов, так и к отдельным лекарственным средствам. Кроме того, в работе представлена динамика частоты выявления ЛУ по определенным временным периодам за 18 лет, а также величина указанных показателей по 7 федеральным округам, что без сомнения придает целостность диссертационной работе. Диссертант проанализировал факторы, которые могут быть значимыми в развитии лекарственной устойчивости, используя корреляционные тесты.

В качестве замечания можно отметить малые выборки по некоторым округам, например в 1 группе в Северо-Западном ФО было 11 пациентов, в Дальневосточном ФО – 16 пациентов, во 2 группе в Уральском ФО – 75 пациентов, что снижает ценность полученных в этих регионах результатов, может приводить к смещению выборки, не позволяет экстраполировать данные на весь ФО и ведет к некорректным выводам. Однако некоторые округа были представлены достаточным количеством участников (например, Центральный ФО – 851 пациент в 1 группе и 408 пациентов во 2 группе). Исходя из вышесказанного, правильнее было бы включить в диссертацию только регионы с репрезентативными выборками.

Автором показано, что среди некоторых уникальных субтипов ВИЧ встречаемость мутаций ЛУ составляет 73%, что существенно выше, чем в традиционно циркулирующих вариантах вируса. Полученный результат является и научной новизной и практической значимостью, однако диссертант не стал выделять это очевидное достоинство работы.

При изучении корреляции между возникновением ЛУ ВИЧ-1 и длительностью приема АРТ пациентами 1 группы были выявлены небольшие, но статистически значимые различия. Вполне вероятно, что достоверная разница получится больше, если бы автор провел корреляцию с количеством принимаемых пациентами схем АРТ.

Поскольку диссертант не является врачом-инфекционистом, клиническая интерпретация некоторых результатов была для него затруднительна. Так, в работе использовалась не совсем правильная трактовка стадий ВИЧ-инфекции, в связи с чем объяснение корреляции стадии заболевания с частотой встречаемости мутаций ЛУ не так однозначно.

Определенной погрешностью работы явилось отсутствие данных о возможной предшествующей АРТ до 2002 г у пациентов 2 группы. В случае попадания в эту группу больных, уже получавших ранее АРТ, результаты могли быть не совсем корректными.

Исследование автором ИРП позволило вскрыть пробелы в работе учреждений здравоохранения, занимающихся оказанием медицинской помощи больным ВИЧ-инфекцией. Обнаружено, что из всех пациентов, получающих АРТ в исследуемых центрах СПИД, лишь 45,4% имеют подавленную менее 1000 копий/мл вирусную нагрузку при целевых показателях 90%. Автору удалось установить причины сложившейся ситуации при более детальном анализе, что несомненно имеет большое практическое значение.

В четвертой главе представлено краткое содержание всех глав диссертации, обобщены полученные автором результаты с данными других исследователей, изложена трактовка собственных результатов, что позволило сформулировать итоги работы, вытекающие из содержания диссертационного материала. Однако вывод 4 о высоком уровне ЛУ в Уральском и Сибирском округах и необходимости проведения генотипирования ВИЧ-1 перед назначением АРТ у всех пациентов в данных округах вызывает сомнения. Во-первых, как было указано ранее, в этих

регионах анализировалась недостаточная выборка. Во-вторых, сбор основных данных в этих ФО проводился в 2013-2015 гг, когда была выявлена максимальная совокупная частота встречаемости ЛУ у наивных пациентов, а уже к 2019-2020 гг. этот показатель уменьшился до 5%. Кроме того, основной вклад в частоту ЛУ вносят мутации к ЗТС и FТС (M184V), а эти препараты входят почти во все схемы АРТ и повышают чувствительность к другим НИОТ, поэтому их использование будет продолжено и в дальнейшем, несмотря на частоту встречаемости. Принимая во внимание все вышеуказанное, рекомендация о проведении теста на резистентность всем пациентам, начинающим АРТ в Уральском и Сибирском ФО, преждевременна. Однако, можно согласиться с необходимостью постепенного расширения использования этих тестов в региональных программах.

Решение задач, сформулированных автором, в полной мере представлены в диссертации, что свидетельствует о завершенности работы.

Качество оформления диссертации соответствует нормативным положениям, предъявляемым ВАК РФ к научным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Основное содержание диссертационного материала достаточно полно отражено в 7 печатных работах, в том числе 4 опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Результаты доложены на международных и российских научно-практических конференциях.

В целом работа Ожмеговой Екатерины Никитичны заслуживает положительной оценки.

Диссертация представляет собой самостоятельный труд автора. Приведенные в диссертации материалы – результат личного участия автора в постановке задач, организации и исполнении исследований. Научные положения и итоги диссертации соответствуют целям и задачам исследования, базируются на достаточном клинико-лабораторном, статистическом материале, обоснованы и логичны.

Указанные замечания не снижают общего научного уровня работы.

Важнейшие положения, выводы и практические рекомендации диссертации нашли свое отражение в автореферате, изложенном на 25 страницах.

В процессе ознакомления с проведенной работой появилось несколько вопросов к диссертанту:

1. Как в данном исследовании пациентам была диагностирована I стадия ВИЧ-инфекции (стадия инкубации)?
2. Чем можно объяснить снижение частоты выявления первичной и приобретенной ЛУ в последние годы?
3. Планируете ли Вы исследовать ЛУ к новым АРВ-препаратам (ингибиторам интегразы, ННИОТ 2-го поколения)?

**Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным
Положением о порядке присуждения ученых степеней**

Таким образом, диссертация Е.Н. Ожмеговой на тему «Лекарственная устойчивость ВИЧ-1 на территории Российской Федерации в период с 2002 по 2020 гг.», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология», является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной для биологии и медицины задачи – определить распространенность ЛУ ВИЧ в России и в ее регионах, а также выявить основные причины, влияющие на развитие резистентности.

Диссертация отвечает требованиям, предъявляемым 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 Ожмегова Е. Н. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. «Вирусология».

Официальный оппонент,

старший научный сотрудник специализированного научно-исследовательского отдела по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,

доктор медицинских наук,

111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д.3А

Тел.: +7 (926) 911-95-17

e-mail: kanestri@yandex.ru



В.Г. Канестри

«21» сентября 2023 г.

Подпись <u>В.Г. Канестри</u>
Ученый секретарь <u>Н.С. [подпись]</u> заверяю
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора