

Отзыв официального оппонента
кандидата биологических наук Останковой Юлии Владимировны на
диссертацию Лебедевой Натальи Николаевны «Молекулярно-
генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, циркулировавших на
территории Московской области в 2011 — 2016 гг., и анализ мутаций
лекарственной устойчивости к антиретровирусным препаратам»,
представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских
наук по специальности 03.02.02 – вирусология

Актуальность темы диссертации

Интерес к представленной в диссертационной работе проблеме связан с тем, что по состоянию на 2019 год в мире насчитывалось 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). Распределение субтипов / суб-субтипов ВИЧ в мире неоднородно и варьирует в зависимости от географического региона. В Восточной Европе и Центральной Азии, включая страны, ранее входившие в состав СССР, более 50% инфекций ВИЧ вызваны субтипом А с заметным вкладом субтипа В и CRF.

В последнее время уровень появления новых случаев ВИЧ-инфекции замедлился, и, согласно оценкам, ежегодное число новых случаев инфицирования среди взрослого населения в мире оставалось практически неизменным, однако за тот же период ежегодная оценка новых случаев ВИЧ-инфекции в Восточной Европе и Центральной Азии показала увеличение на 57%. При этом существенная доля инфицированных проживает на территории Российской Федерации. В целом среди стран бывшего СССР в России бремя эпидемии ВИЧ является самым высоким: в 2014 году число новых случаев увеличилось на 13% по сравнению с 2013 годом, а в 2015 году было зарегистрировано 742 631 случай заболевания. К середине 2020-го года, согласно представленным территориальными центрами по профилактике и борьбе со СПИД данным, число лиц с диагнозом ВИЧ составило почти 1,5

млн. человек.

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 А, 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. Второй геновариант ВИЧ, получивший распространение в этом регионе после эпидемий, суб-субтип В, обозначаемый как IDU-B или BFSU и относящийся к монофилетической кладе, также отличается от последовательностей субтипа В, циркулирующих в Западной Европе.

В последующие годы эпидемия ВИЧ продолжала распространяться, затрагивая гетеросексуалов и мужчин, имеющих половые контакты с мужчинами (МСМ). Уже в 2010 году среди новых случаев инфицирования 37,3% были заражены посредством гетеросексуального полового контакта, а в 2014 году ПИН составляли только 57,3% зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции и 72,4% случаев с определенным путем передачи. В настоящее время данные эпидемиологического надзора показывают большие региональные различия в распространенности ВИЧ среди ПИН, варьирующие от 3% до 64%.

Таким образом, с изменением доминирующего пути передачи в России соотношение субтипов ВИЧ также изменилось. Общая доля суб-субтипов не-А6 увеличилась с 7% в 2000 году до 10–20% в 2010 году, случаи инфекций, вызванных суб-субтипом А6, снизились с 91,75% в 2000–2001 годах до 70,55% в 2014–2015 годах при одновременном росте распространенности субтипов В, С и CRFs. Вирус субтипа В (7,9%) - наиболее часто выявляемый вариант ВИЧ не-А6, за которым примерно в 7,01% случаев следует AG-рекомбинант, далее субтип G (1,3%) и субтип С (1,06%). Несмотря на современную распространенность на территории РФ иных субтипов ВИЧ, а также рекомбинантных форм вируса, частота встречаемости суб-субтипа А6 в стране все еще превышает 70%, а в некоторых регионах достигает 90%.

Введение высокоактивной антиретровирусной терапии (АРВТ), 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. Правильное использование препаратов фактически превратило неизбежно смертельное заболевание в хроническое состояние, поддающееся лечению путем подавления вирусной нагрузки до неопределяемых уровней и обеспечения постоянного увеличения количества CD4 + Т-лимфоцитов.

Увеличение числа умерших среди ВИЧ-инфицированных лиц, в том числе умерших вследствие ВИЧ-инфекции, связывают с недостаточным охватом больных диспансерным наблюдением и лечением. Так, по данным на 2017 год в РФ охват больных лечением составил 35,5% от числа живущих с диагнозом ВИЧ-инфекция или 47,8% от числа состоявших на диспансерном наблюдении. Тем не менее, в большинстве случаев при соблюдении режима лечения прогноз благоприятен, что значительно уменьшает риск прогрессии заболевания и снижает вероятность распространения патогена.

Однако несмотря на резкое улучшение показателей ВИЧ / СПИДа после введения АРВТ, лекарственная резистентность вируса остается серьезной угрозой устойчивому воздействию антиретровирусных препаратов во всем мире. Высокая скорость эволюции вируса, его молекулярно-генетическая изменчивость, являющаяся результатом большого числа ошибок при репликации вируса, высоких темпов мутации и рекомбинации фермента обратной транскриптазы, а также неравномерность скорости фиксации нуклеотидных замен в ходе молекулярной эволюции при АРВТ, приводят к накоплению с течением времени мутаций лекарственной устойчивости. А такие факторы как низкая приверженность терапии, характерная для ПИН и их половых партнеров, отсутствие контроля за уровнем вирусной нагрузки в периферической крови, безосновательное изменение схемы терапии увеличивают риск развития резистентности вируса к лекарственным средствам.

Особое значение приобретает фармакорезистентность ВИЧ к препаратам сразу нескольких групп, так как это значительно сокращает возможности терапии. Фактически, лечение может не давать положительных результатов у 16–27% пациентов, не получавших АРВТ, и у 50–70% ранее лечившихся больных.

Таким образом, диссертационное исследование, направленное на молекулярно-эпидемиологический анализ генетических вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Московской области, за период с 2011 по 2016 гг., а также на оценку распространенности и профиля мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к АРТ у пациентов, испытавших вирусологический неуспех лечения, является несомненно актуальным и своевременным.

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 клинико-лабораторные исследования 896 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.

Материалы диссертации доложены на 10 научно-практических конференциях различного уровня, в том числе международных и зарубежных, а также отражены в 31 печатной работе, 6 из которых представлены в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования научных результатов диссертации.

Научная новизна диссертации

Новизна данной диссертационной работы не вызывает сомнений. Крупномасштабное исследование автором генетических вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Московской области, и лекарственной устойчивости вируса, позволили по-новому взглянуть на проблему распространения штаммов с мутациями ЛУ в том или ином регионе с течением времени, по мере изменения характера эпидемического процесса, в разных возрастных категориях, разных группах населения, включая уязвимые группы.

Оценка характера резистентности ВИЧ-1 в целом и по классам лекарственных препаратов у пациентов, испытавших неуспех АРТ на базе анализа массива данных, а также определение наиболее распространенных мутаций ЛУ, крайне интересны и важны для вирусологов, специалистов клинической лабораторной диагностики, эпидемиологов, инфекционистов.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Описанное автором многообразие субтипов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Московской области, включая уникальные рекомбинантные

формы вируса, а также убедительная демонстрация связи указанного многообразия с процессами трудовой миграции в области и усилением контактов между группами риска заражения, существенно дополняют имеющиеся на сегодняшний день представления о развитии эпидемии ВИЧ-инфекции в Московской области, являющейся значимым густонаселенным регионом Российской Федерации.

Несомненную практическую значимость имеет депонирование проанализированных нуклеотидных последовательностей исследованных образцов в международную базу GenBank и созданная база данных пациентов, которым проводили генотипирование с целью анализа лекарственной устойчивости ВИЧ-1, так как позволяет оценить клинко-эпидемиологические данные пациентов по 14 параметрам, включая такие показатели, как возраст, пол, дата первого положительного иммунного блота, путь заражения, уровень вирусной нагрузки, схема АРТ, мутации лекарственной устойчивости и другие, а значит, появляется возможность, на основе экстраполяции данных, предсказать риск неудачи АРТ и развитие мутаций ЛУ у новых пациентов, что может быть использовано в ежедневной практической деятельности врачей-инфекционистов при выборе антиретровирусных препаратов для первой и (если потребуется) для второй и последующих линий терапии.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертация оформлена в традиционном стиле, изложена на 124 страницах текста и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы и приложения и практические рекомендации. Список литературы содержит 100 источников, из которых 12 отечественных и 88 зарубежных. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 50 рисунками.

Во введении представлено обоснование актуальности выбранной темы диссертационной работы, определены цель и вытекающие из нее задачи, представлена научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

Обзор литературы посвящен подробному изложению современных представлений о вирусе иммунодефицита человека, включая строение его генома, генетическое разнообразие, жизненный цикл вируса, эпидемиологическую ситуацию в мире и возможности антиретровирусной терапии.

Вторая глава диссертационной работы посвящена описанию материалов и методов, использованных для выполнения исследования. Для

достижения цели и решения задач исследования были использованы биологические образцы, полученные от 896 ВИЧ-инфицированных пациентов, которым по клиническим показаниям проводили анализ на определение ЛУ к АРТ в период с 2011 по 2016 гг. Подробно описаны использованные в ходе работы молекулярно-биологические методы, а также биоинформатические и статистические методы, примененные для обработки полученных данных.

Собственные результаты исследований представлены в одной главе, включающей шесть подразделов. В первом подразделе главы собственных исследований представлена клинико-эпидемиологическая характеристика лиц, включенных в исследование, оценена половозрастная структура группы, а также определены основные пути передачи ВИЧ среди обследованных лиц. Второй подраздел посвящен анализу антиретровирусной терапии, которую получали пациенты. В третьем подразделе проведен анализ выявленных мутаций в составе гена *pol* и определены частоты мутаций ЛУ. Четвертый и пятый подразделы посвящены анализу полученных нуклеотидных последовательностей ВИЧ, в ходе которого были определены субтипы, суб-субтипы вируса, включая рекомбинантные формы, а также оценено время существования самого последнего общего предка популяций ВИЧ-1 суб-субтипа А6 и субтипа в Московской области. Оценка демографической истории суб-субтипа А6 ВИЧ-1 и субтипа В в Московской области представлена в шестом подразделе главы собственных исследований.

В четвертой главе, обсуждении, автором суммируются основные результаты диссертационной работы, проводится обсуждение и сравнение полученных данных и результатов их разностороннего анализа.

Работа завершается 5 выводами, отражающими суть полученных сведений и логично вытекающих из результатов работы.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационной работы Лебедевой Натальи Николаевны не имею.

При ознакомлении с диссертационным исследованием возникают следующие вопросы, не носящие, впрочем, критического характера и не снижающие общего достоинства работы:

1. Отмечена разница в частоте встречаемости мутации А62V у разных субтипов ВИЧ-1, однако, говоря в целом о частоте мутаций ЛУ в группе и подгруппах, речь идет о мутациях, независимо от субтипа вируса или анализ мутаций проводили в соответствии с субтипами ВИЧ, учитывая характерные

для них мутации? Как проводили учет мутаций ЛУ в случаях ВИЧ циркулирующих или уникальных рекомбинантных форм?

2. Имело ли значение количество используемых схем антиретровирусной терапии, сроки начала терапии с момента инфицирования и продолжительность терапии для развития мутаций ЛУ?

3. Отмечается все большее выявление случаев, когда у не получавших ранее лечение ВИЧ-инфицированных лиц и у сравнительно недавно инфицированных лиц, определяли мутации ЛУ. Можете ли вы быть уверены, что в обследованной группе мутации развивались под воздействием АРТ или нельзя отрицать вероятность заражения пациентов «мутантным» вариантом вируса?

4. Выявляли ли в ходе филогенетического анализа случаи предположительного заражения из одного источника, информация о которых не была представлена в клиничко-anamnestических данных? Встречались ли случаи с полностью или почти полностью идентичными нуклеотидными последовательностями анализируемого региона ВИЧ, о независимом инфицировании которых было достоверно известно?

Заключение.

Диссертация Лебедевой Натальи Николаевны, выполненная под руководством доктора биологических наук Бобковой Марины Ридовны и кандидата медицинских наук Пронина Александра Юрьевича, на тему «Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, циркулировавших на территории Московской области в 2011 — 2016 гг., и анализ мутаций лекарственной устойчивости к антиретровирусным препаратам», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной задачи – молекулярно-генетической характеристики вариантов ВИЧ-1, циркулировавших на территории Московской области в период с 2011 по 2016 гг., включающей генотипический анализ и анализ мутаций ЛУ, что имеет существенное значение как для вирусологии, так и для эпидемиологии. По актуальности темы, научной новизне, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов представленная работа Лебедевой Н.Н. полностью соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых

степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ N 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 – «вирусология».

Официальный оппонент:

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

14.05.2021.



Останкова Ю.В.

Адрес: 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14
Тел. +7 (921) 353-81-73
Email: shenna1@yandex.ru

Подпись к.б.н. Останковой Ю.В. заверяю
Ученый секретарь Г.Ф. Трифонова

