

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Чуб Елены Владимировны  
«Рекомбинантные варианты вируса гепатита С типа 2k/1b на юге Западной Сибири»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Вирусный гепатит С остается актуальной проблемой для здравоохранения. Опасность инфекции ВГС состоит в высокой степени хронизации, прогрессировании в цирроз и рак печени, что ухудшает качество жизни населения и увеличивает смертность при отсутствии специфической профилактики этой инфекции. В клинической практике особое место принадлежит вопросам лечения пациентов. Несмотря на постоянные разработки новых препаратов значительной проблемой в лечении гепатита С является высокая изменчивость вируса, обусловленная мутациями, а также способностью ВГС к образованию рекомбинантов, поскольку известно о разной чувствительности генотипов ВГС к проводимой терапии. Поэтому правильное определение генотипа является важным фактором для выбора рациональной схемы лечения инфицированных ВГС пациентов. По-прежнему в России уделяется недостаточно внимания изучению вопросов молекулярной эпидемиологии ВГС с привлечением современных молекулярно-биологических подходов, в то время как анализ полученных в подобных исследованиях данных позволяет оценить факторы, влияющие на распространение ВГС на конкретной территории, эффективность превентивных программ, а так же прогнозировать развитие сложившейся эпидемиологической ситуации.

В этой связи диссертационная работа Чуб Елены Владимировны, посвященная выявлению истинной встречаемости рекомбинантных изолятов на территории Западной Сибири, их происхождению, а также разработке удобного метода диагностики рекомбинантных вариантов типа 2k/1b является, несомненно, актуальным исследованием.

### **Соответствие содержания и оформления диссертации требованиям ВАК**

Диссертационная работа изложена на 124 страницах текста, имеет традиционную структуру и состоит из: списка сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, выводов, а также списка цитируемой литературы, состоящего из 176 источников отечественных и зарубежных авторов. Работа хорошо иллюстрирована и включает 13 таблиц и 21 рисунок.

Во введении охарактеризовано современное состояние мониторинга ВГС, обосновывается актуальность работы, сформулированы цели и задачи исследования.

В обзоре литературы, занимающем 35 страниц рассмотрены клинические и эпидемиологические аспекты ВГС, строение генома и классификация ВГС. Подробно рассмотрены также возможные механизмы рекомбинации и описаны все известные на сегодняшний день рекомбинанты ВГС. Обзор проиллюстрирован наглядными рисунками, облегчающими восприятие рассматриваемых вопросов.

В главе «Материалы и методы» приведено подробное описание методов, использованных в работе: молекулярно-биологических, эпидемиологических и иммуноферментных методов и метода филогенетического анализа.

В третьей главе «Результаты и обсуждение» изложены результаты собственных исследований автора. В частности, эпидемиологические характеристики обследованной группы пациентов с диагнозом «острый гепатит С», описание обнаруженных рекомбинантных изолятов и подтверждение точки рекомбинации, создание мультиплексной системы для скринингового генотипирования изолятов ВГС, филогенетический анализ рекомбинантов. Материалы этого раздела изложены детально и последовательно. Экспериментальные данные хорошо иллюстрированы.

В заключении обобщены основные результаты исследований. Полученные данные достоверны, выводы корректны, обоснованы и логически вытекают из полученных соискателем результатов.

#### **Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов диссертации**

Диссертационная работа Чуб Е.В. представляет собой законченное исследование, выполненное с использованием современных молекулярно-биологических, эпидемиологических, иммуно-химических методов и методов компьютерного анализа. Целью исследования явилось «изучение распространенности, путей передачи и генетического разнообразия рекомбинантных изолятов ВГС типа 2k/1b на территории Западной Сибири». Для достижения этой цели автор выдвинула ряд задач, включающих молекулярно-эпидемиологическое исследование проб от больных гепатитом, разработку метода скринингового генотипирования изолятов ВГС, скрининг клинических образцов сывороток крови, полученных от пациентов инфицированных ВГС, филогенетический анализ последовательностей выявленных рекомбинантных изолятов.

Работа выполнена на хорошем методическом уровне с применением современных материалов и оборудования. Поставленные задачи успешно решены, а цель достигнута. Полученные соискателем результаты были многократно апробированы на различных конференциях и их достоверность не вызывает сомнения. По теме диссертации опубликовано 5 статей в журналах перечня ВАК.

Всё изложенное позволяет говорить о высоком профессиональном и методическом уровне исследования. Большой объем экспериментального материала, использование

современных высокоинформативных методов исследований и теоретическое обобщение полученных данных, позволили соискателю сформулировать основные выводы диссертационной работы, объективность и высокая степень достоверности которых не вызывает сомнений.

### **Научная новизна и практическая значимость работы**

Соискателем впервые на территории Сибири выявлены 3 случая инфицирования рекомбинантной формой CRF01\_1b2k ВГС. Поскольку существующие тесты для генотипирования ВГС не позволяют выявлять рекомбинантов, автором была разработана мультиплексная система, позволяющая различать генотипы ВГС 1b, 2 (2a, 2c или 2k), 3a и рекомбинантные варианты типа 2k/1b. Уже с использованием созданной системы было выявлено 5 новых случаев рекомбинантной формы в г. Новосибирске, а также показано, что доля CRF01\_1b2k среди циркулирующих генотипов составляет примерно 1%. Автором сделан вывод о единстве происхождения рекомбинантной формы CRF01\_1b2k ВГС и оценено время ее возникновения.

Несомненно, что полученные соискателем данные имеют большое практическое значение. Информация о циркулирующих субтипах ВГС крайне важна для оценки эпидемиологической обстановки в регионе, а выявление значимого количества рекомбинантных вариантов заставляет пересмотреть стратегию определения генотипа и подбора схемы лечения. Разработанная тест-система не только решает проблему с корректным определением рекомбинантов, но и позволит выявить достаточное количество пациентов инфицированных CRF01\_1b2k ВГС для оценки эффективности применяемого лечения.

### **Общие замечания по диссертационной работе**

По содержанию и оформлению диссертации принципиальных замечаний нет. Однако следует высказать ряд редакционных замечаний по оформлению работы:

1. Одной из целей работы диссертанта является изучение путей передачи ВГС. Такая работа соискателем успешно выполнена, но не нашла отражения в выводах диссертации и в положениях выносимых на защиту.
2. Выводы, сделанные в работе логически вытекают из результатов исследования, однако пункты №3, №4, №5 и №6 хотя по сути верны, но сформулированы как краткие заключения.

Высказанные замечания несколько не умаляют научно-практической ценности выполненной Чуб Е.В., результаты которой могут быть использованы в практическом здравоохранении для скринингового генотипирования изолятов ВГС, а также для выбора оптимальной стратегии терапии гепатита С, зависящей, как известно, от субтипа ВГЦ.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Предложенный соискателем метод диагностики и генотипирования ВГС, позволяющий определять в биологических образцах актуальные для РФ генотипы, включая рекомбинантную форму CRF01\_1b2, могут быть использованы на региональном и федеральном уровне организаторами здравоохранения при планировании мероприятий по мониторингу и контролю над распространением ВГС и раннему выявлению этого заболевания, а также, как уже отмечалось выше, для выбора оптимального способа терапии для каждого пациента.

### Заключение

Диссертация Чуб Елены Владимировны «Рекомбинантные варианты вируса гепатита С типа 2k/1b на юге Западной Сибири», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, является законченной научно-квалификационной работой, которая вносит важный вклад в изучение существующего генетического разнообразия ВГС, и результаты которой целесообразно использовать для оценки эпидемиологической обстановки в исследуемых регионах по ВГС, для скринингового генотипирования изолятов ВГС, а также для выбора рациональной схемы лечения гепатита С.

Диссертационная работа по важности поставленных и решенных в ней задач, современному методическому уровню их решения, несомненной научной и практической значимости работы, обоснованности научных положений и выводов, полноте публикаций материалов, соответствует требованиям, предъявляемым ВАК при Минобрнауки РФ к кандидатским диссертациям, критериям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г.), а ее автор Чуб Елена Владимировна заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Заведующий лабораторией  
генной инженерии

ФГБНУ «НИИ биохимии»,

доктор биологических наук, профессор

А.Б. Беклемишев

Ученый секретарь

ФГБНУ «НИИ биохимии»

Т.В. Гольцова

Личную подпись Беклемишева А.Б. «Заверяю».

Начальник ОК НИИ Биохимии

Н.И. Логинова

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

