

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Мануйлова Виктора Александровича «Генетическое разнообразие вируса гепатита В в группах коренного населения Сибири», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

Актуальность темы диссертационного исследования

Вирус гепатита В (ВГВ) относится к одним из наиболее опасных отдаленными последствиями инфекции вирусов человека. По современным оценкам, в мире насчитывается 250-300 млн. хронических носителей ВГВ, причем этот показатель продолжает увеличиваться с ростом населения планеты. У 15-25% из этих носителей ВГВ со временем разовьется цирроз печени или гепатоцеллюлярная карцинома, а всего от хронических заболеваний печени и гепатоцеллюлярной карциномы в мире умирает около 1 млн. человек в год. В последние годы получены убедительные данные о влиянии генетических и серологических особенностей ВГВ на клиническую картину заболевания, чувствительность и специфичность существующих методов диагностики, а также эффективность вакцинопрофилактики данного патогена. В современном мире практический специалист в области диагностики и лечения ВГВ должен учитывать эти генетические характеристики вируса в своей деятельности. Кроме того, высокая вариабельность ВГВ предоставляет значительные возможности для проведения исследований, связанных с эволюцией вируса, историей и динамикой его распространения среди населения земного шара. Такие исследования непрерывно проводятся исследователями всего мира. В России особенный интерес представляют локальные коренные группы населения Сибири, которые в силу своей изолированности от городской (пришлой) популяции могут служить эпидемиологическими резервуарами, в которых происходит сохранение и, возможно, ускоренное эволюционное развитие инфекционных патогенов. Молекулярно-генетические исследования позволяют оценить степень генетической гетерогенности возбудителя и предсказать направление дальнейшего развития эпидемической ситуации в отношении ВГВ.

В этой связи диссертационная работа В.А. Мануйлова, посвященная изучению вариабельности ВГВ в ранее не обследованных коренных группах населения Сибири, является, несомненно, актуальным исследованием. Особенную значимость эта работа приобретает в настоящее время, на фоне проводимых всеобщих программ вакцинации против гепатита В населения России и внедрении в клиническую практику новых, более совершенных методов диагностики ВГВ.

Соответствие содержания и оформления диссертации требованиям ВАК

Диссертационная работа выполнена в традиционной форме и изложена на 118 страницах текста, включает 6 таблиц и 12 рисунков. Состоит из введения, литературного обзора, описания материалов и методов, изложения собственных результатов и их обсуждения, выводов, благодарностей и списка использованной литературы. Список литературы включает 240 источников, из них – 210 иностранных.

Во введении диссертант обосновывает актуальность работы, формулирует цель и задачи исследования, суммирует научную новизну полученных результатов, описывает

практическую значимость исследования, перечисляет конференции, на которых были доложены результаты работы.

Литературный обзор написан хорошим литературным языком, и дает основные понятия об объекте исследования — ВГВ, особенностях строения его вириона и деталях его жизненного цикла. Автор уделяет много внимания особенностям инфекции, в том числе тем ее аспектам, которые важны для практических целей — динамике возникновения серологических маркеров, соответствию между генетической структурой вируса и его иммунологическими детерминантами, связи этих характеристик и результатов серологической диагностики, эффективности вакцинирования, тяжести заболевания и лекарственной устойчивости инфекции. Наиболее подробные подразделы обзора посвящены фундаментальным вопросам скорости изменчивости ВГВ и моделям его эволюции в контексте человеческой истории. Обзор проиллюстрирован наглядными рисунками, облегчающими восприятие рассматриваемых вопросов. В целом обзор литературы дает полное представление о том, какую научно-практическую ценность представляют молекулярно-эпидемиологические исследования ВГВ. При прочтении этой главы обращает на себя внимание проявленное соискателем глубокое и всестороннее знание научной литературы по изучаемой проблеме.

В главе «Материалы и методы» приводится информация о собранной коллекции образцов (5657 шт.), общем дизайне исследования и использованных методах (включая наиболее современные) — иммуноферментном анализе, полимеразной цепной реакции, секвенировании ДНК, разнообразных филогенетических и статистических способах анализа полученных данных.

В четвертой главе изложены результаты собственных исследований автора. Основной используемый способ изложения результатов — разбивка исследуемых образцов на группы и сравнение их всех между собой по 10 параметрам инфекции ВГВ (частоте встречаемости маркеров, генетических и серологических вариантов ВГВ) — понятен читателю и не вызывает возражений. Комментарии к полученным результатам оригинальны, приведено сравнение полученных данных с данными предшествующих авторов смежных работ. Следует отметить некоторую перенасыщенность текста численными данными, а также склонность автора несколько раз повторять в тексте одни и те же результаты (ссылаясь на удобство для читателя), однако это не мешает восприятию главы «Результаты и обсуждение» как целостной, понятной и логически связной. Глава завершается заключением, обобщающим основные результаты работы.

Выводы сформулированы лаконично, четко и полностью соответствуют поставленным задачам.

В отдельной небольшой главе («Благодарности») перечислены коллеги автора, задействованные в экспериментальной части работы (с указанием их вклада), указаны гранты и программы финансирования выполненного исследования. Также в этом разделе содержится указание на то, что молекулярно-биологическая часть исследования была выполнена автором лично.

Степень обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Цель исследования определена диссертантом как «изучение частоты встречаемости ВГВ, его генотипов, субгенотипов и субтипов (серотипов поверхностного белка вируса – HBsAg) в группах коренного населения ряда районов Сибири и анализ полученных данных». Для достижения этой цели автор поставил перед собой ряд задач, касающихся определения частот встречаемости HBsAg, генотипов и субгенотипов ВГВ, субтипов HBsAg в группах коренного населения Сибири: алтайцев и казахов Республики Алтай; телеутов Кемеровской области; бурят и русских Иркутской области; хантов, коми, ненцев, селькупов Ямало-Ненецкого автономного округа (ЯНАО); долган, нганасан и кетов Красноярского края, а также сравнения исследованных групп между собой по изучаемым параметрам.

Поставленные задачи успешно решены: экспериментально показано, что среди коренного населения Сибири существуют несколько обособленных вирусных популяций ВГВ разных типов, при этом субгенотип D1 (субтип ауw2) превалирует в группах казахов Республики Алтай, Кемеровской области, русских Иркутской области и Дудинского района Красноярского края; D2 (ауw3) – в ЯНАО; D3 (ауw2) – в группах алтайцев Республики Алтай и Аларского района Иркутской области. При этом частоты встречаемости ВГВ в этих группах также существенно отличаются: три из них (алтайцы Республики Алтай, долганы и нганасаны Красноярского края, телеуты Кемеровской области) относятся к высокоэндемичным (более чем 10% носителей ВГВ), а остальные относятся к среднеэндемичным (казахи Республики Алтай, буряты Иркутской области, русские Иркутской области с частотой встречаемости ВГВ 4-7%) и низкоэндемичным (ЯНАО – 1,6%). Автор дает рекомендации по организации надзора за инфекцией ВГВ и организации иммунопрофилактики населения в обследованных группах в зависимости от их молекулярно-эпидемиологических характеристик. Полученные различия подтверждены статистическим анализом данных. Это свидетельствует о существовании в прошлом нескольких различных источников инфекции ВГВ в Сибири.

Таким образом, поставленные в диссертации задачи решены, а цель достигнута. Работа выполнена на хорошем методическом уровне с использованием достаточной коллекции образцов, современных материалов и оборудования. Выводы и рекомендации не вызывают сомнений.

Научная новизна и достоверность результатов

Впервые получены данные о встречаемости ВГВ и его вариантов (генотипов, субгенотипов), а также уточнены данные по встречаемости субтипов HBsAg для групп коренного населения Сибири: алтайцев и казахов Республики Алтай, телеутов Кемеровской области, бурят и русских Иркутской области, хантов, коми, ненцев и селькупов ЯНАО, кетов, долган и нганасан Красноярского края. Полученные результаты являются новыми; аналогичные результаты в данных группах ранее не были получены другими исследователями. Полученные автором результаты не противоречат данным других исследователей, выполненным в других группах населения России. Полученные соискателем результаты были многократно апробированы на различных конференциях и их достоверность не вызывает сомнений. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в реферируемых журналах перечня ВАК.

Ценность для науки и практики выводов и рекомендаций диссертанта

Практическая значимость диссертации В.А. Мануйлова состоит в том, что впервые получены данные по распространенности HBsAg в ряде групп коренного населения Сибири. Ранее данные об эпидемиологической ситуации для этих популяций отсутствовали. Результаты свидетельствуют о наличии трех высокоэндемичных групп по распространенности инфекции ВГВ: алтайцев Республики Алтай (13,4%), долганов и нганасан Красноярского края (13,2%), телеутов Кемеровской области (10,2%), в которых необходимо проведение массовых мероприятий по профилактике ВГВ-инфекции. Также получены данные о встречаемости генетических вариантов ВГВ, отличающихся по клиническим характеристикам, в исследованных популяциях. В частности, на высоком уровне (18%) зафиксирована встречаемость генотипа С на крайнем севере Сибири – п-ове Таймыр. С учетом того, что данный генотип является более патогенным (приводит к более тяжелым последствиям для здоровья пациента) по сравнению с эндемичным для Сибири генотипом D, этот факт должен учитываться практикующими врачами-инфекционистами, работающими с данным населением при выборе тактики лечения. Определенная в работе диссертанта частота встречаемости субтипов HBsAg в группах коренного населения будет полезна при выборе рекомбинантных вакцин против гепатита В в этих группах, а также при разработке иммуноферментных тест-систем российскими производителями. Непосредственным и явным практическим результатом работы является проведение ИФА-диагностики HBsAg для 5657 человек, вошедших в исследование.

В целом соискателем на обширном экспериментальном материале выполнена объёмная и очень интересная работа с использованием современных иммунохимических и молекулярно-биологических методов с привлечением филогенетических и статистических способов анализа полученных данных.

Общие замечания по диссертационной работе

По содержанию и оформлению диссертации принципиальных замечаний нет. Тем не менее, следует отметить ряд замечаний по оформлению работы:

1. несколько перегружена по объёму глава «Обзор литературы» (52 стр.) относительно главы «Результаты и обсуждение», представленной на 28 стр.
2. на рисунках 7, 8 и 12 едва различимы названия изолятов ВГВ. Рисунки 7 и 12, по-видимому, было бы целесообразно для наглядности представить на 2-страницах, а рис.8 на 3-х или 4-х страницах.
3. Вывод №5 сформулирован, как краткий результат работы. Его можно было бы сформулировать следующим образом: «Исследованные группы коренного населения являются изолированными друг от друга в отношении передачи ВГВ».

Разумеется, сделанные замечания не затрагивают существа интересной, и, на мой взгляд, очень важной для медицины и эпидемиологии ВГВ работы В.А. Мануйлова, результаты которой могут быть использованы для рациональной вакцинации коренного населения Сибири и создания специфичных тест-систем для диагностики инфекции ВГВ в различных регионах Сибири.

В дискуссионном плане хотелось бы задать соискателю следующие вопросы:

1. Анализ встречаемости HBsAg в половозрастных группах Республики Алтай и Иркутской области, который показал отсутствие связи между уровнем инфицированности и полом и возрастом до 35 лет, свидетельствует, что среди коренного населения Сибири осуществляются пути передачи инфекции не связанные с внутривенным употреблением наркотиков или рискованным сексуальным поведением. Не является ли одним из путей передачи инфекции алиментарный путь: общее пользование грязной посудой, коллективное курение одной трубки и т.д.?
2. С чем связаны различия во встречаемости генотипов ВГВ, в популяции двух близко соседствующих народностей Республики Алтай: казахов и алтайцев?

Заключение

Диссертация Мануйлова Виктора Александровича «Генетическое разнообразие вируса гепатита В в группах коренного населения Сибири», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, является законченной научной квалификационной работой, в которой в результате выполненных автором исследований, направленных на решение важных вопросов молекулярной эпидемиологии вируса гепатита В в России, определена встречаемость ВГВ и его генетических вариантов в ряде групп коренного населения Сибири и сделаны выводы о существовании нескольких различных источников инфекции ВГВ в этих группах, а также их эпидемиологической обособленности друг от друга.

Диссертационная работа по актуальности решаемой проблемы, степени научной новизны, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте публикаций материалов в научных печатных изданиях, соответствует требованиям ВАК при Минобрнауки России, предъявляемым к кандидатским диссертациям, критериям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г.), а ее автор Мануйлов Виктор Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук 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.

