

Отзыв

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора
Никитина Игоря Геннадиевича
на диссертационную работу Малова Сергея Игоревича
на тему «Клинико-патогенетическое и прогностическое значение
биомаркеров при гепатите С и ассоциированных с ним заболеваниях»,
представленную к защите на соискание ученой степени доктора
медицинских наук по специальности 3.1.22 - Инфекционные болезни**

Актуальность темы. Несмотря на появление эффективных противовирусных препаратов, экономическое бремя вирусных гепатитов остается высоким в связи с ростом кумулятивной заболеваемости, распространенности цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), ассоциированной с вирусами гепатита В и С. За последние 20 лет (по сравнению с 1990 г.) распространенность цирроза печени в России выросла в 2 раза, а общее количество больных приближается к 4 миллионам человек. Не менее серьезную проблему для национального здравоохранения представляет ГЦК. Несмотря на относительно невысокий уровень заболеваемости ГЦК в Российской Федерации (3,3 ‰) сохраняется негативная тенденция среднегодового прироста в 2,04% и высокой смертности от этого заболевания – 3,66 ‰. На фоне массовой вакцинации населения против гепатита В и существенного снижения уровня заболеваемости HBV-инфекцией львиную долю пациентов с продвинутым фиброзом печени и ГЦК представляют больные хроническим гепатитом С (ХГС). Известно существование половых и расовых отличий в распространенности ГЦК с общей закономерностью более высокой поражаемостью мужчин и представителей азиатской расы. Однако до настоящего времени недостаточно изучены генетические маркеры и другие факторы риска, влияющие на характер течения и исход гепатита С на индивидуальном, гендерном и популяционном уровне среди населения Северо-

Восточной Азии. Соответственно, диспансеризация больных ХГС, включая пациентов после успешной противовирусной терапии, носит характер длительного клинического наблюдения и не предполагает, выделения групп высокого риска и построения персонализированной траектории их ведения.

Цель диссертационной работы Малова С.И. заключалась в совершенствовании прогноза течения и исхода HCV-инфекции и оптимизации тактики ведения больных в условиях применения препаратов прямого противовирусного действия на примере этнических групп Северо-Восточной Азии.

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научная новизна и теоретическая значимость рассматриваемой работы заключается в выявлении ранее неизвестных факторов, определяющих течение и исход гепатита С, количественной оценки внешних и генетически детерминированных рисков прогрессирования цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, описании и диагностической оценки новых геномных и протеомных онкомаркеров первичного рака печени, ассоциированного с гепатитом С.

Основные положения диссертационной работы, определяющие ее новизну, заключаются в следующем:

- дана клинико-эпидемиологическая характеристика ХГС и ГЦК, ассоциированной с HCV-инфекцией в этнических группах населения, проживающего на территории Северо-Восточной Азии;
- выявлены физиологические и клинические факторы риска, а также лабораторные предикторы прогрессирования фиброза печени и риска развития ГЦК у больных гепатитом С после успешной противовирусной терапии;
- впервые проведено комплексное исследование клинико-патогенетического и прогностического значения однонуклеотидных

полиморфизмов, микроРНК и белковых биомаркеров при гепатите С, циррозе печени и ГЦК, ассоциированной с HCV, в этнических группах европеоидов, монголоидов и тюркоязычного населения Северо-Восточной Азии;

- выдвинута оригинальная гипотеза, объясняющая повышенный риск развития ГЦК в этнических группах азиатских народов основанная на влиянии полиморфизма гена, кодирующего транспортный белок экспортин-5 на снижение экспрессии miR-122 в гепатоцитах, которая обладает функцией онкосупрессора («эффект губки»).

Высокая оценка **практической значимости** результатов исследования определяется разработкой рекомендаций по прогнозированию риска развития и ранней диагностики ГЦК у больных вирусными гепатитами, которые рекомендованы Координационным советом по области образования «Здравоохранение и медицинские науки» для практического использования. Кроме этого для практического здравоохранения разработана методика персонализированного прогноза развития ГЦК в исходе гепатита С и усовершенствован способ определения генотипа человека, связанного с ацетилированием ксенобиотиков.

Несомненный вклад для практической деятельности вносит разработка программы для ЭВМ № 2021611780 «Расчет риска развития гепатоцеллюлярной карциномы» и ее регистрация на основе IBM-PC – совместимых ПК и смартфонов Android.

Разработанные подходы могут быть использованы в работе медицинских учреждений инфекционного и онкологического профиля, а также при диспансеризации больных гепатитом С и циррозом печени.

Результаты исследований Малова С.И., полученные в ходе выполнения диссертации, внедрены в учебный процесс в виде преподавания новых знаний и компетенций по дисциплине «инфекционные болезни» в ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова», ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет», Иркутской государственной медицинской академии

последипломного образования – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова».

Разработанные методики и практические рекомендации внедрены в клиническую работу учреждений здравоохранения Иркутской области, Республики Саха (Якутия), Республики Бурятия.

Степень достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

Диссертация Малова С.И. на соискание ученой степени доктора медицинских наук представляет собой законченную научно-исследовательскую работу. Большой объем клинических наблюдений и выполненных лабораторных исследований в сочетании с глубоким статистическим анализом полученных данных подтверждают достоверность результатов и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций.

Работа выполнена на примере этнических групп Северо-Восточной Азии на популяционном уровне. В исследование было включено 2227 человек с острым и хроническим гепатитом С, включая больных на стадии цирроза печени и ГЦК, пациентов со спонтанным клиренсом вируса и практически здоровых лиц. По этническому признаку представителей европеоидов было 849 человек, тюркоязычного населения – 614, монголоидов – 764. Было проведено генотипирование 24 однонуклеотидных полиморфизмов девятнадцати генов: *IFNL1* (rs30461); *IFNL3* (rs12979860 и rs8099917); *IFNL4* (rs368234815); *CD209* (rs4804803); *TLR3* (rs3775291 и rs13126816); *TLR7* (rs179008 и rs179009); *TLR8* (rs3764879 и rs3764880); *IFITM3* (rs12252); *MyD88* (rs6853); *IFIH1* (rs1990760); *IRAK1* (rs3027898); *HNF4α* (rs4812829 и rs6031552); *TGFB2R* (rs4522809); *TAB3* (rs1000129516); *MECP2* (rs1734791); *ELK1* (rs1000619237); *NAT2* (rs1495741); *GPC3* (rs2267531); *XPO-5* (rs11077). Проведено 407 определений уровня экспрессии miR-122, 495 изолированных и комбинированных анализов

онкомаркеров в крови, поставлен эксперимент по моделированию ГЦК у лабораторных животных.

Статистическую обработку материала проводили с использованием общепринятых методов статистики, включающих в себя сравнение двух выборок и корреляционный анализ. Для анализа различий между группами использовали t-критерий Стьюдента, непараметрический критерий Колмогорова – Смирнова (λ), критерий Манна – Уитни (U) и хи-квадрат (χ^2). Для каждого однонуклеотидного полиморфизма статистический анализ был проведен по различным моделям наследования: кодоминантной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной и аддитивной. Для оценки диагностической эффективности отдельных онкомаркеров использовали ROC-анализ. Первичные данные обрабатывались с использованием современных лицензированных программ.

Основные результаты диссертационного исследования хорошо представлены в опубликованных работах. По материалам диссертации опубликовано 34 работы, в том числе 23 – в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки РФ для публикации основных результатов диссертационных исследований на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук. Получено 3 патента на изобретение, разработана электронная компьютерная программа для ЭВМ.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 18 научно-практических мероприятиях всероссийского и международного уровня. По заданию Минздрава Иркутской области разработаны методические рекомендации «Улучшение качества вторичной профилактики развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных хроническим гепатитом С и специализированной медицинской помощи больным гепатоцеллюлярным раком на территории Иркутской области». По итогам внедрения результатов исследования в практическое здравоохранение автор диссертации отмечен дипломом лауреата областного конкурса в сфере науки и техники 2021 года в номинации «За значительный вклад в решение социально-экономических

проблем Иркутской области» за работу «Оптимизация мероприятий по оказанию медицинской помощи населению Иркутской области при ВИЧ-инфекции, туберкулезе и парентеральных вирусных гепатитах». Разработанный автором калькулятор оценки риска развития печеночно-клеточного рака на основе IBM-PC – совместимых ПК и Android представлены на VII Ежегодной национальной выставке «ВУЗПРОМЭКСПО-2020» (Москва).

Оценка структуры и содержание работы

Диссертационная работа построена традиционно и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов, 5 глав собственных исследований, после которых идет обсуждение с последующими выводами, практическими рекомендациями и перспективами дальнейшей разработки темы. Список литературы содержит 363 источника, из которых 319 зарубежных. Работа изложена на 245 страницах машинописного текста, включая 8 клинических примеров, а также 46 таблиц и 10 рисунков.

Структура и содержание диссертации С.И. Малова также представлена в автореферате, включая положения, выносимые на защиту, полученные результаты, выводы и практические рекомендации. Оформление автореферата и диссертации полностью отвечает существующим требованиям.

Во введении автор обосновывает актуальность проблемы, касаемо не только гепатита С, но и ассоциированных с ним заболеваний, таких как цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома. Цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту, сформулированы четко и понятно.

Глава 1 состоит из трех разделов и представляет собой обзор литературы. Описаны существующие и ожидаемые трудности в Российской Федерации в части реализации стратегии ВОЗ по элиминации вирусных гепатитов к 2030 г. Приведен анализ литературных источников по оценке рисков прогрессирования фиброза печени и развития ГЦК у пациентов, успешно прошедших противовирусную терапию. Во втором и третьем разделе обзора с дискуссионных позиций представлены перспективы использования геномных и протеомных предикторов в персонализированной медицине с акцентом на

вирусные гепатиты и ассоциированные с ними онкологические заболевания печени. Обзор литературы дает достаточно полное представление о современном состоянии медицинской науки по использованию биомаркеров и перспективах развития прецизионного подхода в инфектологии и гепатологии.

В главе «Материалы и методы» представлен дизайн исследования, материально-техническое обеспечение работы, а также дана характеристика территорий Северо-Восточной Азии, где проводился сбор клинического материала. В описательном порядке представлена общая характеристика пациентов, включая контрольные группы, и приведены методы молекулярно-генетических, иммунологических и иных исследований, включая эксперимент на животных. Примечательно, что экспериментальная часть работы выполнена с участием автора на базе медицинского факультета Университета Гренобль-Альпы, что обеспечило высокий методический уровень исследования и подтверждено совместными публикациями. В заключении главы подробно описаны методы статистической обработки материала, даны ссылки на используемые пакеты программ.

Глава 3 посвящена анализу клинико-лабораторных данных у больных хроническим гепатитом С, гепатоцеллюлярной карциномой, а также пациентов со спонтанным клиренсом вируса и сравнительному описанию особенностей клинических проявлений у представителей различных этнических групп. Выявленные клинико-эпидемиологические отличия не носят принципиального характера, однако, установлено, что частота спонтанного клиренса вируса значительно отличается в сравниваемых группах. Шансы на спонтанное выздоровление у представителей монголоидной расы были в 2 раза выше, чем у европеоидов. В отношении ГЦК, ассоциированной с гепатитом С установлены общие для всех этнических групп характеристики: возраст старше 60 лет, преобладание лиц мужского пола, латентное течение на ранней стадии, поздняя диагностика.

В главе 4 диссертации представлен анализ генетических маркеров в виде однонуклеотидных полиморфизмов 19 генов, влияющих на течение и исход

гепатита С. Первоначально автором было проведено популяционное исследование распространённости однонуклеотидных полиморфизмов среди населения трех регионов Северо-Восточной Азии. На последующих этапах изучена ассоциация этих полиморфизмов с заболеваемостью ХГС, спонтанным клиренсом вируса, развитием ГЦК. Это позволило выявить неизвестные ранее генетические маркеры, часть из которых представляли универсальные ассоциации, а часть были характерны только для определенных этнических групп.

Глава 5 содержит результаты исследования факторов риска прогрессирования фиброза печени у больных гепатитом С после успешной противовирусной терапии с учетом внешних (конституциональных и модифицируемых) факторов и генетических предикторы. Согласно полученным результатам к внешним факторам риска прогрессирования фиброза печени относится сахарный диабет 2 типа и индекс массы тела более 28 кг/м^2 , а из лабораторных показателей – нормальная активность АЛТ до начала противовирусной терапии и уровень остеопонтина более 80 нг/мл . Кроме этого найден уникальный генетический полиморфизм в локусе rs4812829 гена ядерного фактора гепатоцитов 4 α , маркирующий повышенную профибротическую активность в тканях печени. Этот же полиморфизм ассоциирован с более частым развитием сахарного диабета и входит в генетическую сеть процессинга микроРНК.

В главе 6 представлены комплексные результаты исследования микроРНК-122 при остром и хроническом гепатите С, описывается её связь с фиброзом и циррозом печени (как вирусной, так и неинфекционной этиологии), а также с риском развития гепатоцеллюлярной карциномы. Полученные данные указывают на перспективность использования микроРНК для прогнозирования скорости развития фиброза печени и оценки риска развития ГЦК, что очень востребовано сегодня в практическом здравоохранении.

Седьмая глава посвящена поиску сывороточных онкомаркеров, а также возможности их комбинации для ранней диагностики ГЦК. В эксперименте на

крысах, с моделированием ГЦК с помощью диэтилнитрозамина, доказано значение остеопонтина как раннего маркера, превышающего диагностическую ценность альфа-фетопротеина. А предложенная автором комбинация альфа-фетопроtein+остеопонтин+глипикан-3 (чувствительность 89,1%, специфичность 90,9%) показала свою эффективность как предиктора ГЦК с возможностью ранжирования риска от нулевого до абсолютного у пациентов с гепатитом С после достижения устойчивого вирусологического ответа.

В главе «Обсуждение» подводятся итоги диссертационной работы в сравнении с современными достижениями науки на национальном и международном уровне, убедительно демонстрируется научная новизна и перспективы использования полученных результатов.

Завершенность и качество оформления диссертационной работы

Диссертация написана хорошим литературным языком, текст не перегружен сокращениями и специфическими терминами. Встречаются единичные опечатки и орфографические ошибки. Табличный материал, касающийся анализа распространенности полиморфизмов генов в исследуемых этнических группах, размещен в виде приложений, что облегчает восприятие информации в главах. Достоинством работы является использование в дополнение к таблицам графиков, рисунков и клинических примеров. Полноценное обсуждение полученных результатов в итоговой главе логично перетекает в выводы, практические рекомендации и предложения по дальнейшим направлениям работы. Цель и задачи диссертационного исследования полностью достигнуты. Замечаний к качеству оформления диссертации и автореферата нет.

Замечания и вопросы по содержанию работы

Диссертация Малова Сергея Игоревича на тему «Клинико-патогенетическое и прогностическое значение биомаркеров при гепатите С и ассоциированных с ним заболеваниях» соответствует паспорту специальности 3.1.22. Инфекционные болезни. Диссертация оформлена в соответствии с

требованиями, предъявляемыми к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора наук.

Принципиальных замечаний к диссертации нет. Имеется два уточняющих вопроса адресованных автору:

1) Внедрение вируса гепатита С в организм человека сопровождается экспрессией сотен генов, опосредующих реакции врожденного и адаптивного иммунитета. Что послужило основанием для отбора 24 однонуклеотидных полиморфизма 19 генов, представленных в диссертации? Почему именно эти гены выбраны для анализа?

2) По Вашим данным содержание микроРНК-122 в крови больных хроническим гепатитом С в стадии цирроза печени на фоне лечения препаратами прямого противовирусного действия существенно снижается на 4-12 недели терапии. С учетом онкосупрессивной функции miR-122 можно ли расценивать лечение препаратами прямого действия этой категории больных как фактор провоцирующий развитие ГЦК?

Эти вопросы носят дискуссионный характер и никоим образом не уменьшают очевидные достоинства выполненного научного исследования.

Заключение

Диссертация Малова Сергея Игоревича на тему «Клинико-патогенетическое и прогностическое значение биомаркеров при гепатите С и ассоциированных с ним заболеваниях» представленная к защите на соискание ученой степени доктора наук по специальности 3.1.22 – «Инфекционные болезни», является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных исследований решена проблема по оптимизации ведения больных гепатитом С в условиях применения препаратов прямого противовирусного действия, с учетом как индивидуальных, так и расовых особенностей пациентов, что имеет важное хозяйственное значение.

По своей актуальности, новизне, фундаментальной и практической значимости диссертация Малова С.И. полностью соответствует требованиям,

изложенным в пункте 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года (с последующими изменениями Постановления Правительства), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.22 – «Инфекционные болезни».

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой госпитальной

терапии им. академика Сторожакова Г.И.

лечебного факультета ФГАОУ ВО

«Российский национальный исследовательский

медицинский университет им. Н.И. Пирогова»

Министерства здравоохранения

Российской Федерации

д.м.н., профессор

Подпись заверяю



Игорь Геннадиевич Никитин

Контактные данные официального оппонента:

Рабочий адрес: 117997, г. Москва, ул.Островитянова, д.1

Телефон: +7.916.161.57.27

Адрес электронной почты: igor.nikitin.64@mail.ru