

Отзыв

**официального оппонента члена-корреспондента РАН, доктора
медицинских наук, профессора Жданова Константина Валерьевича
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 рассматриваемого диссертационного исследования несомненна и определяется широким распространением гепатита С и связанного с ним прогрессирующего заболевания печени – цирроза (ЦП) и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). В Российской Федерации препятствием к снижению заболеваемости хроническим гепатитом С (ХГС) является недостаточный охват нуждающихся в терапии, преобладание вновь выявленных случаев заболевания над количеством пролеченных больных, поздняя диагностика ЦП и ГЦК, ассоциированных с вирусом гепатита С. Это особенно актуально для Азиатской части России, где уровень заболеваемости ХГС и ГЦК значительно выше среднероссийского показателя. Очевидно, что высокий уровень заболеваемости в регионах Северо-Восточной Азии требует совершенствования методов прогнозирования течения и исхода HCV-инфекции в условиях этнического разнообразия проживающего на данной территории населения. Важное значение имеет исследование факторов риска и генетических предикторов прогрессирующего фиброза печени и развития ГЦК у больных ХГС на индивидуальном, гендерном и расовом уровне.

Вышеизложенное позволило автору диссертационного исследования сформировать цель работы – усовершенствовать прогнозирование течения и исхода HCV-инфекции и оптимизировать тактику ведения больных гепатитом С в условиях применения препаратов прямого противовирусного действия на примере этнических групп населения, проживающих на

территории Северо-Восточной Азии. В ходе проведения исследования автором были решены задачи по сравнению клинических проявлений ХГС и ГЦК у представителей различных этнических групп; изучена распространенность некоторых однонуклеотидных полиморфизмов на изучаемых территориях; установлена частота спонтанной элиминации вируса гепатита С; определены генетические предикторы, влияющие на течение и исход гепатита С, в разрезе половой и этнической принадлежности; изучены факторы риска прогрессирования фиброза печени и развития гепатоцеллюлярной карциномы; определено патогенетическое и прогностическое значение miR-122; в эксперименте на животных и на клиническом материале установлены наиболее эффективные сывороточные онкомаркеры; разработаны научно обоснованные рекомендации по применению биомаркеров в персонализированном ведении больных гепатитом С и прогнозировании гепатоцеллюлярной карциномы.

Научная новизна и теоретическая значимость рассматриваемой работы заключается в установлении ранее неизвестных модифицируемых и генетических факторов, влияющих на течение и исход ХГС после успешной противовирусной терапии. Выявлены универсальные и характерные для отдельных этнических групп генетические маркеры, ассоциированные со спонтанным клиренсом вируса гепатита С, развитием ГЦК и прогрессированием фиброза печени.

Впервые проведено комплексное исследование клинико-патогенетического и прогностического значения геномных и протеомных биомаркеров при гепатите С в этнических группах европеоидов, монголоидов и тюркоязычного населения Северо-Восточной Азии. Выявлены новые однонуклеотидные полиморфизмы генов интерферона- λ , Toll-подобных рецепторов, экспортина-5, глипикана-3, и ядерного фактора гепатоцитов 4 α , которые могут быть использованы в прогностических целях. Установлено прогрессивное снижение экспрессии miR-122 при ЦП и ГЦК, что делает этот маркер перспективным в качестве предиктора рака печени. По данным эксперимента и клинических наблюдений установлена комбинация сывороточных онкомаркеров, включающая альфа-фетопротеин,

остеопонтин и глипикан-3, показавшая высокую эффективность для прогнозирования ГЦК, ассоциированной с HCV, на ранней стадии болезни.

Определенные в результате проделанной работы протеомные и геномные маркеры позволяют применить их для обеспечения персонализированной траектории наблюдения за больными ХГС и оптимизировать тактику ведения больных в условиях применения препаратов прямого противовирусного действия.

Практическая значимость работы определяется разработкой рекомендаций по прогнозированию риска развития и ранней диагностики ГЦК, которые внедрены на всероссийском уровне в виде учебного пособия и созданием оригинальной методики персонализированного прогноза развития ГЦК, ассоциированной с вирусом гепатита С, путем определения белковых биомаркеров в крови пациента. Содержащаяся в методике интеллектуальная собственность, защищена патентом РФ № 2749117. Помимо этого, в ходе выполнения работы разработан способ определения генотипа человека, связанного с ацетилированием ксенобиотиков (Патент РФ № 2756203). На основании предложенного способа определения риска развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных хроническим гепатитом С (Патент РФ № 2723891) осуществлена государственная регистрация программы для ЭВМ № 2021611780. Разработанные подходы могут быть использованы при диспансеризации населения в работе амбулаторно-поликлинической сети учреждений здравоохранения, инфекционных больниц и отделений.

Обоснованность, достоверность и объективность полученных соискателем результатов, выводов и практических рекомендаций.

Степень достоверности полученных результатов обусловлена продуманным дизайном исследования, логично связанными задачами и целью работы, репрезентативной выборкой, экспериментальным подтверждением выявленных взаимосвязей. Исследование достаточного количества больных гепатитом С, в том числе больных на стадии ЦП и ГЦК в разрезе популяций жителей Иркутской области (русские), Монголии (монголы) и тюркоязычного населения республики Саха (Якутия) позволило автору получить достоверные результаты, не вызывающие сомнения.

Следует отметить индивидуальный подход к подбору методов статистической обработки в соответствии с каждой конкретной задачей исследования. Выводы логично вытекают из полученных результатов, а практические рекомендации носят конкретный характер и соответствуют современным тенденциям диспансеризации и ведения больных инфекционными болезнями.

Уровень апробации результатов. Положения диссертационной работы неоднократно докладывались на международных и всероссийских конференциях и были обсуждены и апробированы на межкафедральном заседании в ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. Результаты диссертационной работы опубликованы в 34 печатных работах, в том числе 23 в изданиях, рекомендованных ВАК (в журналах, индексируемых в реферативных базах Scopus – 17; Web of Science - 6).

Личный вклад автора.

Автором проведен анализ отечественных и зарубежных источников литературы, сформулированы цель и задачи, разработан поэтапный дизайн, организован сбор биологического материала в исследуемых регионах, осуществлено планирование и проведение исследований, обеспечено ведение информационных баз данных. Автор лично проводил клинический осмотр пациентов, анализировал клинические данные, выполнял эластографию печени на аппарате «Echosens FibroScan-502» (Франция), обобщил и статистически обработал полученные результаты, сформулировал выводы, подготовил публикации и практические рекомендации.

Содержание и оформление диссертации.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления» и написана в традиционном стиле. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей материалы и методы, пяти глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Текст диссертации написан хорошим языком. Научная дискуссия, представленная в заключении, дает полное

представление о вкладе результатов настоящей диссертации в решение проблем, связанных с элиминацией гепатита С в части прогнозирования течения и исхода заболевания. Диссертация изложена на 245 страницах машинописного текста, иллюстрирована 10 рисунками и 46 таблицами, 8 клиническими примерами. Список литературы включает 363 наименования, в том числе 319 – зарубежных авторов.

Во введении приводится аргументация актуальности исследования и степень разработки темы, сформирована цель, поставлено 7 задач, решение которых определяет достижение цели. Достаточно подробно описаны новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Глава 1 (обзор литературы) представлена в виде трех разделов, первый из которых касается трудностей элиминации гепатита С в мире и Российской Федерации, актуальности поиска независимых предикторов прогрессирования фиброза печени и развития ГЦК после успешной противовирусной терапии. Второй раздел обзора литературы описывает современное представление о роли однонуклеотидных полиморфизмов генов иммунного ответа при вирусных гепатитах, что особенно важно в связи с включением в диссертационное исследование представителей трех этнических групп, существенно отличающихся по распределению переменных сайтов ряда генов. Третий раздел дает полное представление о перспективах использования генетических маркеров и циркулирующих протеинов с целью прогнозирования течения гепатита С и онкопревенции ГЦК. Обзор литературы завершается обоснованием актуальности разработки персонализированных подходов при наблюдении больных ХГС после успешной противовирусной терапии. В целом обзор литературы вполне достаточен для введения читателя в состояние проблемы и отличается логической завершенностью и глубиной анализируемых литературных данных.

В главе 2 приводятся данные об объектах исследования, применяемых лабораторных, в том числе молекулярно-генетических и морфологических методах, а также статистических способах обработки материала. Следует отметить значительный объем выполненных исследований. Всего

обследовано 2227 человек, в том числе острым гепатитом С – 17, ХГС – 633, ГЦК – 419, людей со спонтанным клиренсом вируса – 228. Контрольную группу составили 868 здоровых лиц и 62 больных циррозом печени неинфекционной этиологии. По этническому составу представителей европеоидов было 849, монголоидов – 764, тюркоязычного населения Северо-Восточной территории России – 614. Трудности, связанные с трансграничной передачей биоматериала, были успешно решены путем личного участия автора в экспедиционных работах и наличия необходимых разрешительных документов Росздравнадзора. Экспериментальная часть работы выполнена на современном методическом уровне на линейных крысах Fischer 344 на лабораторной платформе университета Гренобль-Альпы (Франция) при непосредственном участии диссертанта.

В главе 3 проанализированы клинико-лабораторные особенности ХГС и ГЦК, ассоциированной с HCV-инфекцией у представителей изучаемых этнических групп. Установлено, что во всех генетических группах ХГС чаще всего протекает субклинически. У монголов в клинике преобладал астеновегетативный синдром, в этнической группе русских и якутов – диспептический. У больных ГЦК во всех группах отмечено преобладание в структуре мужчин и лиц пожилого возраста и низкая выявляемость рака на ранней стадии болезни. Несмотря на незначительные отличия в клинических проявлениях частота спонтанного клиренса вируса в этнических группах существенно отличалась. Установлено, что чаще всего спонтанный клиренс регистрируется в популяции монголов (43,7%), реже – в популяции европеоидов (28,2%).

Глава 4 является логическим продолжением предшествующей главы. В ней автор через анализ распространенности в популяции однонуклеотидных полиморфизмов генов объясняет причины гендерных и расовых отличий в клинике гепатита С и ГЦК. Путем исследования различных моделей наследования выявлены вариабельные сайты генов, маркирующих предрасположенность к спонтанному клиренсу, повышенному риску развития ГЦК и прогрессированию фиброза печени после успешной противовирусной терапии. Интересно, что некоторые полиморфизмы в

качестве предикторов универсальны для всех этнических групп, другие же узкоспецифичны только в пределах одного этноса.

В главе 5 подробно рассмотрены факторы риска и генетические предикторы прогрессирования фиброза печени у больных гепатитом С после успешной элиминации вируса. Этот раздел работы выполнен как широкомасштабное проспективное исследование с анализом конституциональных факторов риска, коморбидных состояний, лабораторных показателей и генетических маркеров. Проведенный анализ с использованием адекватных статистических методов выявил существенную роль избыточной массы тела и сопутствующего сахарного диабета 2 типа, а из лабораторных показателей предсказательное значение имеет активность АЛТ и уровень остеоопонтина в крови на момент начала противовирусной терапии. В рецессивной модели показана доказательная связь прогрессирования фиброза печени с носительством АА-генотипа rs4812829 гена ядерного фактора гепатоцитов 4α.

Глава 6 посвящена комплексному анализу значения микроРНК-122 при гепатите С. Этот раздел работы выполнен на высоком методическом уровне, что позволило автору получить приоритетные результаты, отличающиеся научной новизной. Установлена прямая зависимость между активностью печеночных трансаминаз и уровнем экспрессии miR-122. Кроме того, показано, что по уровню miR-122, исследованному в процессе диспансеризации больных, можно судить о скорости прогрессирования фиброза печени. Развитие ГЦК сопровождается ещё более выраженным, чем при циррозе печени, угнетением экспрессии miR-122, что может быть использовано для прогнозирования рака печени. В результате анализа автор делает важное заключение о том, что сочетание состояний, сопровождающихся снижением экспрессии miR-122 (прогрессирование фиброза печени, противовирусная терапия препаратами прямого действия, носительство АА-генотипа rs11077 гена экспортина-5) чревато значительным увеличением риска развития рака печени у больных ХГС.

В главе 7 по совокупности диагностических характеристик произведен отбор наиболее эффективных белковых сывороточных онкомаркеров,

проверена в эксперименте возможность их использования для ранней диагностики ГЦК, разработан алгоритм прогнозирования рака печени у больных ХГС после эффективной элиминации вируса. На основании экспериментальной модели проверена возможность использования интегрин-связывающего гликофосфопротеина - остеопонтина в качестве онкомаркера ГЦК. В последующем на клиническом материале подтверждена диагностическая значимость остеопонтина, а его сочетание с альфа-фетопротеином и глипеканом-3 обладало наилучшими показателями чувствительности (89,1%) и специфичности (90,9%). Примечательно, что описанная автором комбинация онкомаркеров рака печени ранее не рассматривалась как способ прогнозирования риска развития рака у больных ХГС. С целью внедрения полученных результатов разработан калькулятор оценки риска развития ГЦК, который в виде мобильного приложения на основе IBM-PC и ОС Android представлен в открытом доступе. В заключение анализа этого раздела работы следует отметить качественную статистическую обработку материала с использованием ROC-анализа.

В обсуждении логично обобщаются полученные результаты и подводятся итоги проделанной работы.

Завершенность и качество оформления диссертационной работы. Диссертационная работа производит благоприятное впечатление и в целом представляет собой законченное, самостоятельное исследование, внесшее значительный вклад в изучение клинико-патогенетического и прогностического значения генетических биомаркеров и некоторых протеинов при гепатите С, что позволяет усовершенствовать прогнозирование течения и исхода HCV-инфекции и оптимизировать тактику ведения больных. Представленная работа основана на репрезентативных данных, которые были собраны, исследованы и проанализированы автором или при его личном участии. Выводы и практические рекомендации отражают главные результаты научной работы, обоснованы и соответствуют поставленной цели. Содержание автореферата и опубликованных работ полностью соответствуют содержанию диссертации.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе Малова С.И. не имею.

При общей положительной оценке работы, хотелось бы задать вопросы уточняющего характера:

1. В главе материалы и методы (стр. 56) указано, что «у части больных диагноз был верифицирован морфологически путем гистологического исследования биоптата печени». Хотелось бы уточнить конкретную долю больных с морфологически подтвержденным диагнозом и были ли выявлены у больных хроническим гепатитом С другие гистологические формы рака печени?

2. Контрольная группа больных циррозом печени неинфекционной этиологии представлена только этнической группой русских, проживающих на территории Иркутской области. Почему автор отказался от формирования аналогичных контрольных групп в других исследуемых этносах?

Заключение.

Диссертация Малова Сергея Игоревича «Клинико-патогенетическое и прогностическое значение биомаркеров при гепатите С и ассоциированных с ним заболеваниях», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.22. Инфекционные болезни, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная проблема прогнозирования течения и исхода гепатита С, в том числе ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы в условиях применения современных противовирусных препаратов с учетом индивидуальных, гендерных и расовых характеристик, что имеет важное социально-экономическое и хозяйственное значение.

Представленная работа по своей актуальности, научной новизне, практической значимости, уровню публикаций полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года (в действующей редакции), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.22. Инфекционные болезни.

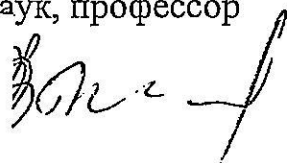
Отзыв о научно-практической ценности диссертационной работы Малова С.И. обсужден и утвержден на заседании кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний) Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (протокол № 11 от 21.03.2023 года).

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015), необходимых для работы диссертационного совета Д 64.01.010.01.

Начальник кафедры инфекционных болезней
(с курсом медицинской паразитологии
и тропических заболеваний)

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия
имени С.М. Кирова» МО РФ
член-корреспондент РАН,

~~член-корреспондент РАН,~~ профессор



Жданов Константин Валерьевич

2023 года

Адрес: 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

Телефон: 7 (812) 667-71-18

Сайт: <http://vmeda.mil.ru>

Электронная почта: vmeda-nio@mil.ru

Подпись члена-корреспондента РАН, д.м.н., профессора Жданова
Константина Валерьевича заверяю:

ДЕЛА КАДРОВ
ИНФЕКЦИОННОЙ
СМИИ
П. МИЛИЧЕНКО