

ВІДГУК

офіційного опонента, завідувача кафедри вірусології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика (наказом МОЗ України від 10.02.2021 №225 було перейменовано Національну медичну академію післядипломної освіти імені П.Л. Шупика) доктора медичних наук, професора Дзюблик І.В. на дисертаційну роботу Люльчук Марії Геннадіївни «Моніторинг резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів в системі епідагляду за ВІЛ-інфекцією в Україні», яка подана на здобуття наукового ступеню доктора медичних наук за спеціальністю 14.02.02 – епідеміологія

Актуальність теми. Дисертація Люльчук М.Г. присвячена вивченню важливого питання: резистентності вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) до антиретровірусних препаратів (АРВП). Епідемія ВІЛ-інфекції продовжує поширюватись на теренах України. Так, за даними ДУ «Центр громадського здоров'я МОЗ України» станом на 01.01.2020 року на підконтрольних Уряду України територіях зареєстровано 169 787 ВІЛ-позитивних людей, які перебували на обліку у закладах охорони здоров'я (ЗОЗ), 113 046 осіб (83%) з них отримували антиретровірусну терапію (АРТ).

Проблема поширення резистентних форм вірусу актуальна для всіх країн світу, де запроваджено АРТ, незалежно від рівня їх розвитку чи економічного стану. Вона тісно пов'язано з біологічними властивостями вірусу, його здатністю до реплікації із високою швидкістю, коли кількість вірусних часток за день сягає сотен мільйонів (до 10^{10}), з високим рівнем помилок при зворотній транскрипції (5×10^{-5}), що складає приблизно одну мутацію резистентності (МР) на кожний цикл реплікації. Кожного дня в організмі дорослого пацієнта може генеруватися значна кількість точкових мутації вірусу, що призводить до формування медикаментозної стійкості ВІЛ, при цьому різні субтипи ВІЛ мають неоднакову здатність формувати МР. Доведено, що від субтипової структури вірусу залежать особливості епідемічного процесу ВІЛ-інфекції, рівень первинної та набутої резистентності ВІЛ у конкретному регіоні.

Автор поставила собі за мету вивчити субтипову структуру популяції вірусу, поширеність первинної та набутої резистентності ВІЛ, інших факторів, що сприяють ризику формування стійкості збудника до АРВП та на основі отриманих результатів удосконалити систему епідеміологічного нагляду за ВІЛ-інфекцією шляхом розробки стратегії моніторингу резистентності ВІЛ в Україні.

Результати роботи базуються на репрезентативній кількості експериментальних досліджень, клінічних спостережень. Дисертант

використала сучасні високоінформативні та надійно апробовані в науці і практиці бібліосемантичний, епідеміологічні, молекулярно-генетичні, біоінформативні, статистичні методи дослідження. Достатній обсяг експериментів і спостережень, проведена статистична обробка результатів дозволяють підтвердити адекватність і достовірність зроблених автором висновків, які відповідають меті і поставленим завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано в межах чотирьох науково-дослідних робіт лабораторії молекулярної вірусології Державної установи «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського Національної академії медичних наук України» «Створення системи моніторингу розвитку резистентності та поширення серед населення стійких до антиретровірусних препаратів штамів ВІЛ в Україні» (номер державної реєстрації – 0108U000022; строки виконання: 2008–2010 рр.); «Молекулярно-генетична характеристика популяції збудника ВІЛ-інфекції на сучасному етапі розвитку епідемічного процесу в Україні» (номер державної реєстрації – 0111U002006; строки виконання: 2011–2013 рр., автор – відповідальний виконавець); «Молекулярно-епідеміологічний моніторинг передачі ВІЛ від матері до дитини і шляхи його удосконалення» (номер державної реєстрації – 0114U000388; строки виконання: 2014–2016 рр.); «Молекулярно-генетична структура популяції ВІЛ, що циркулює в умовах розширення антиретровірусної терапії в Україні» (номер державної реєстрації 0117U000423; строки виконання: 2017–2019 рр., автор – відповідальний виконавець).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертація є закінченою науковою працею. Дисертанткою чітко сформульована мета роботи і відповідно до неї 5 завдань, визначено об'єкт, предмет та методи дослідження. Автором вивчено біологічні властивості збудника інфекції, визначено частоту первинної та набутої резистентності ВІЛ, встановлено вплив інших факторів на ризик формування резистентності ВІЛ. Робота виконана на високому науково-методичному рівні.

Зважаючи на проведений обсяг роботи, застосування сучасних методів статистичної обробки одержаних даних, наукові положення, висновки, сформульовані у дисертації, є повністю обґрунтованими.

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертант у своїй роботі отримав низку нових важливих даних, що стосуються проблеми резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів.

Вперше встановлено рівень первинної резистентності ВІЛ до АРВП в Україні. Показано, що низький (<5%) рівень первинної резистентності ВІЛ пов'язаний з домінуванням ВІЛ-1 субтипу А (89,2%).

Дисертантом за допомогою молекулярно-генетичних методів дослідження вперше встановлено спектр мутацій резистентності ВІЛ до АРВП та частоту їх формування у ВІЛ-інфікованих пацієнтів різних вікових груп. Показано, що тривалість АРТ та вік пацієнтів суттєвого впливу на стійкість ВІЛ до АРВП не мали. Вирішальне значення відігравав генетичний бар'єр (ГБ) АРВП: на тлі прийому препаратів з низьким ГБ частота формування МР ВІЛ дорівнювала 5,3%; прийом препаратів з високим ГБ супроводжувався формуванням МР ВІЛ значно рідше – в 1,1% випадків. Вперше доведено, що біоповедінкові особливості пацієнтів-чоловіків є фактором, що асоціюється з підвищеним ризиком формування МР ВІЛ до АРВП.

Автором вперше надано епідеміологічну характеристику субтипу В ВІЛ-1 в Україні. Показано, що популяція субтипу В характеризується двома різними циркулюючими лініями: одна виявляється в основному серед ЛВІН та характеризується дуже низьким генетичним різноманіттям, тоді як друга є генетично схожою на штами субтипу В, що спостерігаються у країнах Західної Європи. Виявлено, що епідеміологічні характеристики ВІЛ-1 субтипу В останнім часом змінилися і більше не обмежується середовищем ЛВІН та поширюється по всій країні.

Вперше на основі філогеографічного аналізу визначено, що на тлі активної міграції населення, викликані економічною кризою та військовим конфліктом на сході країни, анексією Кримського півострова, відбувався перерозподіл вірусних ліній з регіонів, зайнятих війною, до решти території України. Показано, що Схід є головним експортером вірусних ліній (92% міграційних подій у наборі даних). Найбільш інтенсивний рух вірусних ліній спостерігається від східного до центрального і південного регіонів, у напрямку місць із значною часткою людей, які вживають наркотики ін'єкційним шляхом (ЛВІН), зокрема, до міст Одеса та Київ. В Криму та локації «Захід» навпаки міграційних подій спостерігалось дуже мало (<1% в кожному).

Практичне значення одержаних результатів. Завдяки проведеним дослідженням запропоновано шляхи удосконалення системи епідеміологічного нагляду за ВІЛ-інфекцією, що полягають у розробці Національної стратегії моніторингу резистентності ВІЛ в Україні.

Автором удосконалено ефективність лікування ВІЛ-позитивних пацієнтів (дорослих та дітей) шляхом вибору АРВП з високим генетичним бар'єром. Впроваджено моніторинг індикаторів раннього попередження резистентності ВІЛ у закладах охорони здоров'я, які здійснюють медичний супровід ВІЛ-позитивних пацієнтів.

Дисертантом розроблено новий тренінг з питань резистентності ВІЛ для лікарів-інфекціоністів регіональних центрів профілактики і боротьби зі

СНІДом, що висвітлює інформацію з причин формування резистентності ВІЛ, аспектів інтерпретації даних генотипування ВІЛ при обстеженні ВІЛ-позитивних пацієнтів з вірусологічною неефективністю АРТ, практичних рекомендацій щодо доцільності заміни схеми АРТ у тому чи іншому випадках, особливо при виявленні у пацієнтів мультирезистентних форм ВІЛ. Протягом 2014–2017 рр. проведено 15 тренінгів, навчено 350 лікарів-інфекціоністів.

Дисертанткою запропоновано новий спосіб виявлення методом ПЛР контамінації медичного обладнання та інструментарію патогенними вірусами (в тому числі ВІЛ) із парентеральним шляхом передачі, на який отримано патент України.

Автором розроблено новий спосіб приготування зразків сухих крапель крові (СКК) для проведення молекулярно-генетичних досліджень, отримано патент на корисну модель. Спосіб приготування СКК впроваджено в практику регіональних центрів профілактики та боротьби регіональних центрів профілактики і боротьби зі СНІДом МОЗ України для проведення молекулярно-генетичних досліджень з визначення провірусної ДНК ВІЛ-1 у дітей, народжених ВІЛ-позитивними матерями та для визначення рівня вірусного навантаження ВІЛ у ВІЛ-позитивних осіб (дорослих та дітей).

Повнота викладу матеріалів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи відображені у 40 опублікованих наукових працях, зокрема, 20 статей, 12 із яких – у наукових фахових виданнях, які рекомендовані МОН України (6 без співавторів), 7 статей у журналах, віднесених до першого і другого квартилів (Q1 і Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank та реферуються базами даних Scopus та Web of Science; 15 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій, 1 монографія. Отримано 1 патент України на винахід, 2 патенти України на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертацію викладено на 404 сторінках, 319 із яких становить основний текст; складається зі вступу, 8 розділів, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 40 рисунками, 63 таблицями. Список використаних джерел містить 527 найменувань, 71 із яких – кирилицею, 456 – латиницею.

Оцінка структури та змісту дисертації. Дисертаційна робота Люльчук Марії Геннадіївни «Моніторинг резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів в системі епідагляду за ВІЛ-інфекцією в Україні» написана грамотним діловим стилем літературної української мови. Окремі фразеологічні неточності не зменшують наукову та практичну значущість

дисертаційної роботи. Результати роботи викладені за загальноприйнятим для дисертаційних робіт планом.

Вступ містить обґрунтування актуальності теми дослідження. Лаконічно і чітко визначено мету дослідження.

Метою роботи було удосконалити систему епідеміологічного нагляду за ВІЛ-інфекцією шляхом розробки стратегії моніторингу резистентності ВІЛ в Україні на підставі вивчення субтипової структури популяції вірусу, поширеності первинної та набутої резистентності ВІЛ, інших факторів, що сприяють ризику формування стійкості збудника до АРВП. Для досягнення мети дослідником поставлено 5 завдань. Автором ретельно викладено новизну та практичну значимість роботи та особистий внесок дисертанта у виконання досліджень. Зауважень відносно матеріалів, викладених у вступі, немає.

Перший розділ дисертації має назву «Епідеміологія ВІЛ-інфекції» (огляд літератури), складається з 8 підрозділів. В першому підрозділі надається характеристика епідемічному процесу ВІЛ-інфекції в Україні. Автор зазначає, що ретроспективний епідеміологічний аналіз захворюваності на ВІЛ-інфекцію виділяє умовно п'ять основних етапів еволюції епідпроцесу ВІЛ-інфекції в Україні, які відрізнялися кількісними та якісними параметрами і, перш за все, інтенсивністю та домінуючими шляхами передачі збудника.

Характеризуючи у другому підрозділі біологічні властивості ВІЛ, автор підкреслює, що завдяки накопиченню значної кількості спонтанних мутацій в геномі ВІЛ-1, в організмі зараженої людини присутніми є форми вірусу, потенційно стійкі до дії імунної системи та медикаментозних препаратів. При передачі ВІЛ від однієї людини до іншої індивідуальні особливості захисних реакцій організму обумовлюють відбір нових вірусних варіантів, що призводить до збільшення генетичного різноманіття ВІЛ-1 в популяції людини.

У третьому підрозділі наведена сучасна класифікація популяції ВІЛ. Переважна більшість випадків ВІЛ-інфекції в світі (36 мільйонів на кінець 2018 року) викликано вірусами, які відносяться до групи М. Інші три групи - N, O і P є досить рідкісними.

У четвертому підрозділі автор зазначає, що особливістю всіх РНК-вірусів, зокрема, ВІЛ, є те, що в організмі хазяїна ці віруси існують у вигляді великої кількості генетично різноманітних варіантів, що отримали назву «квазивидів». В цьому підрозділі досить ретельно описується історія виникнення епідемії ВІЛ-інфекції у країнах СНД.

У п'ятому підрозділі дисертант розкриває механізми резистентності ВІЛ до антиретровірусних препаратів, в тому числі феномен перехресної резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів.

Особливості лабораторної діагностики, лікування, формування резистентності ВІЛ до АРВП у дітей розглядаються автором у шостому підрозділі першого розділу.

У сьомому підрозділі висвітлюються фактори, що спричиняють ризик формування резистентності ВІЛ.

В останньому підрозділі автор надає характеристику організації епідеміологічного нагляду за ВІЛ-інфекцією в Україні.

У другому розділі «Матеріали і методи дослідження» достатньо повно описані використані матеріали та методики. Розділ за своїм змістом відповідає переліку виконаних автором досліджень, засвідчує високий методичний рівень роботи.

Третій розділ складається з 5 підрозділів. В ньому ретельно описані дослідження, які проводилися автором при вивченні субтипової структури ВІЛ на різних стадіях епідемічного процесу ВІЛ-інфекції в Україні. В кінці розділу автором зроблено підсумок, що у субтиповій структурі популяції ВІЛ в минулі роки і на сьогодні домінує субтип А ВІЛ-1; генетичне різноманіття даного субтипу вірусу є дуже низьким. На основі філогеографічного аналізу нуклеотидних послідовностей гену *pol* ВІЛ-1 підтипу А відстежено напрямки руху вірусних ліній резистентних штамів ВІЛ в межах України. Вперше в Україні встановлено, що міграція населення внаслідок збройного конфлікту на сході України призвела до географічного перерозподілу популяції ВІЛ зі сходу (Донецька і Луганська області) до інших регіонів країни. Визначено, що в Україні відбувається переміщення генетичних варіантів давньої ВІЛ-інфекції, а не нова хвиля епідемії ВІЛ/СНІДу. Виявлено, що більш інтенсивний рух вірусних ліній здійснюється у напрямку місць із значною часткою людей, які вживають ін'єкційні наркотики (ЛВІН) та практикують ризиковану сексуальну поведінку

В четвертому розділі, що складається з двох підрозділів, дисертантом на основі аналізу результатів дослідження, охарактеризовано первинну резистентність ВІЛ до АРВ-препаратів. Показано, що рівень поширення первинної резистентності ВІЛ в Україні залишається низьким та не перевищує 5%.

П'ятий розділ є важливим для всієї роботи. В ньому висвітлюється проблема набутої резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів. Встановлено спектр мутацій резистентності (МР) ВІЛ до антиретровірусних препаратів (АРВП) та частоту їх формування у ВІЛ-інфікованих пацієнтів різних вікових груп. Показано, що тривалість АРТ та вік пацієнтів суттєвого впливу на стійкість ВІЛ до АРВП не мали. Вирішальне значення відігравав генетичний бар'єр (ГБ) АРВП: на тлі прийому препаратів з низьким ГБ частота формування МР ВІЛ дорівнювала 5,3%; прийом препаратів з

високим ГБ супроводжувався формуванням МР ВІЛ значно рідше – в 1,1% випадків. Вперше доведено, що біоповедінкові особливості пацієнтів-чоловіків є фактором, що асоціюється з підвищеним ризиком формування МР ВІЛ до АРВП.

Розділ 6 присвячений проблемі резистентності ВІЛ у дітей. Вперше в Україні встановлено, що частота набутої резистентності ВІЛ до антиретровірусних препаратів (АРВ-препаратів) у ВІЛ-інфікованих дітей складає 5%. Визначено спектр мутацій резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів. Показано, що вирішальне значення щодо частоти формування мутацій резистентності ВІЛ у дітей відіграє генетичний бар'єр АРВ-препаратів. Найбільш безпечними з точки зору ризику формування резистентності ВІЛ є препарати з високим генетичним бар'єром (формування резистентності ВІЛ у дітей на тлі прийому препаратів класу інгібіторів протеази (ІП) з високим генетичним бар'єром відбувається з частотою лише 0,2%). Мутації резистентності ВІЛ до нуклеозидних інгібіторів зворотної транскриптази (ННІЗТ), з низьким генетичним бар'єром, стають причиною вірусологічної неефективності лікування ВІЛ-інфікованих дітей частіше - в 1,5% випадків. Мутації резистентності ВІЛ у дітей зустрічаються достовірно ($p < 0,05$) рідше у порівнянні з дорослими пацієнтами, що можна пояснити тим, що більшість дітей розпочинають АРТ з препаратів класу ІП з високим генетичним бар'єром.

В 7 розділі автор проводить аналіз факторів, що мають вплив на формування резистентності ВІЛ до антиретровірусних препаратів. Автором показано, що в Україні на тлі розширення масштабів АРТ не практикується призначення ВІЛ-інфікованим пацієнтам моно- або бітерапії, що є значним досягненням у сфері боротьби з ВІЛ-інфекцією. Разом з тим, в багатьох регіонах визначено дефіцит АРВП, проблеми з утриманням пацієнтів під диспансерним наглядом та досягненням вірусологічної ефективності лікування.

В розділі 8 автор вказує на те, що епідеміологічний нагляд за ВІЛ-інфекцією в Україні потребує удосконалення та пропонує шляхи вирішення проблеми.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» автор наводить підсумки роботи. При цьому проводиться глибокий аналіз кожного з етапів та по можливості порівнюються власні результати з дослідженнями інших авторів.

Висновки дисертаційної роботи сформульовано у відповідності з отриманими результатами. Вони відповідають поставленим завданням, логічні та науково обґрунтовані.

На загал, дисертаційна робота виконана на достатньому обсязі матеріалу, що дало змогу отримати достовірні результати. Достовірність

даних була також забезпечена використанням статистичних методик. Методичний рівень виконання дисертації відповідає сучасним вимогам медичної науки. Робота має значну практичну значимість, про що свідчать надані акти впровадження результатів НДР та отримані патенти. Результати дисертаційної роботи широко оприлюднені у статтях, виступах, тезах конференцій, в тому числі міжнародних.

Ідентичність змісту автореферату і основних положень дисертації. Автореферат дисертації оформлений відповідно до вимог МОН України, його структура та зміст відповідають основним положенням дисертації.

В процесі ознайомлення з роботою виникли деякі зауваження, а саме:

- 1) в тексті роботи є декілька стилістичних помилок;
- 2) огляд літератури переобтяжено обширним списком наукових публікацій;
- 3) частину матеріалу, яку відображено у розділі 7 можна було перенести у розділ «матеріали і методи».

Наведені зауваження не заперечують науково-практичної значущості роботи і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи Люльчук М.Г.

У порядку наукової дискусії хотілося б отримати відповіді автора на наступні запитання:

1. Чи можливо застосування запропонованого дисертантом філогеографічного аналізу для інших збудників вірусного генезу?
2. Чи плануються в Україні подальші дослідження з визначення первинної резистентності ВІЛ?
3. Яка перспектива застосування в Україні інгібітора ко-рецептору CCR5 препарату Маравірок?

Висновок. Дисертаційна робота Люльчук Марії Геннадіївни «Моніторинг резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів в системі епіднагляду за ВІЛ-інфекцією в Україні» є закінченим науковим дослідженням, що присвячене вирішенню важливої наукової проблеми - удосконалення системи епідеміологічного нагляду за ВІЛ-інфекцією шляхом розробки стратегії моніторингу резистентності ВІЛ в Україні на підставі вивчення субтипової структури популяції вірусу, поширеності первинної та набутої резистентності ВІЛ, інших факторів, що сприяють ризику формування стійкості збудника до АРВП.

За своєю актуальністю, об'ємом досліджень і науково-методичним підходом, науковою новизною отриманих результатів, теоретичною та практичною цінністю дисертаційна робота відповідає вимогам пп. 9, 10, 14 Постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013р. № 567 (зі

змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ №656 від 19.08.2015 р., №1159 від 30.12.2015 р., №567 від 27.07.2016 р.) „Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів“ щодо дисертацій, які подаються на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук, а її автор Люльчук Марія Геннадіївна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.02.02 – епідеміологія.

Офіційний опонент,
завідувач кафедри вірусології
Національного університету
охорони здоров'я України
імені П.Л. Шупика
доктор медичних наук,
професор



І.В.Дзюблик

І.В. Дзюблик
засвідчує

У секретаря

В. В. В. В.