

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, доцента
Іванько Олесі Михайлівни
на дисертаційну роботу Люльчук Марії Геннадіївни на тему
«Моніторинг резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів в системі епідагляду
за ВІЛ-інфекцією в Україні»,
поданої на здобуття наукового ступеню доктора медичних наук
за спеціальністю 14.02.02 – епідеміологія

Актуальність роботи. Україна залишається регіоном Східної Європи з високим рівнем захворюваності на ВІЛ-інфекцію/СНІД. Зусилля держави, громадянського суспільства, міжнародної спільноти щодо подолання епідемії все ще не дали суттєвих наслідків, про що свідчить значне число щорічно виявлених нових випадків хвороби та висока смертність. Епідемія продовжує поширюватися серед загального населення. За офіційними даними, станом на 01.01.2020 року, під медичним наглядом в Україні перебувало 169 787 ВІЛ-позитивних осіб, з них 113 046 пацієнтів отримували антиретровірусну терапію (АРТ).

Розширення масштабів АРТ, з одного боку, дозволяє знизити рівень захворюваності на ВІЛ-інфекцію/СНІД, з іншого - може призвести до збільшення частоти формування та циркуляції серед населення резистентних до антиретровірусних препаратів (АРВП) варіантів ВІЛ.

У випадку з ВІЛ-інфекцією неможливо досягти повної ерадикації етіологічного збудника і поняття «АРТ» означає постійний (пожиттєвий) прийом пацієнтом призначених лікарем лікарських засобів у відповідних дозах і за певною схемою лікування. Недостатня прихильність до АРТ (порушення режиму прийому ліків) призводить до відновлення інфекційного потенціалу вірусу, коли з епідеміологічної точки зору пацієнти знову стають джерелом збудника інфекції з можливістю передачі резистентних до антиретровірусних препаратів (АРВП) варіантів ВІЛ. Пацієнти, інфіковані резистентним вірусом, мають меншу ймовірність досягти вірусологічної ефективності терапії і більший ризик померти. Тому запобігання, моніторинг, реагування на резистентність ВІЛ є надзвичайно важливими заходами щодо збереження сучасних досягнень та покращення епідемічної ситуації з ВІЛ/СНІДу.

Вказане підтверджує актуальність дисертаційної роботи Люльчук М.Г., метою якої є розробка шляхів удосконалення епідеміологічного нагляду (ЕН) за ВІЛ-інфекцією в Україні на підставі вивчення біологічних властивостей збудника, впливу природних та соціальних факторів на поширеність первинної та набутої резистентності, встановлення причин,

що сприяють формуванню стійкості вірусу до АРВП, пошуку шляхів мінімізації ризику розвитку резистентності ВІЛ.

Одним з ключових елементів ефективності лікування є правильна організація забезпечення хворих необхідними препаратами, лабораторним супроводом. Недоліки в системі організації лікування можуть призвести до неефективного лікування та розвитку медикаментозної стійкості до АРВП.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано в рамках 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 (НДР) – 0108U000022; термін виконання: 2008–2010 рр.); «Молекулярно-генетична характеристика популяції збудника ВІЛ-інфекції на сучасному етапі розвитку епідемічного процесу в Україні» (НДР – 0111U002006; термін виконання: 2011–2013 рр., автор – відповідальний виконавець); «Молекулярно-епідеміологічний моніторинг передачі ВІЛ від матері до дитини і шляхи його удосконалення» (НДР – 0114U000388; термін виконання: 2014–2016 рр.); «Молекулярно-генетична структура популяції ВІЛ, що циркулює в умовах розширення антиретровірусної терапії в Україні» (НДР - 0117U000423; термін виконання: 2017–2019 рр., автор – відповідальний виконавець).

Наукова новизна роботи полягає у тому, що автором вперше в Україні здійснено комплексний молекулярно-генетичний аналіз популяції ВІЛ, що циркулює на сучасному етапі епідемії ВІЛ/СНІДу; встановлено, що рівень поширення первинної резистентності ВІЛ до АРВП в регіонах України є низьким та не перевищує 5%, що пов'язано з домінуванням ВІЛ-1 субтипу А (89,2%), менш активним у порівнянні із ВІЛ-1 субтипу В з точки зору частоти формування мутацій резистентності ВІЛ; показано, що епідеміологічні характеристики ВІЛ-1 субтипу В в Україні змінилися;

На основі філогеографічного аналізу нуклеотидних послідовностей гену *pol* ВІЛ-1 субтипу А вперше відстежено напрямки переміщення резистентних варіантів вірусу; показано, що міграція населення внаслідок збройного конфлікту на сході країни призвела до географічного перерозподілу популяції резистентних форм ВІЛ з Донецької і Луганської областей до інших регіонів; найбільш активно поширення ВІЛ відбувається в напрямку міст зі значною часткою ЛВІН, які практикують ризиковану сексуальну поведінку. Недотримання ЛВІН режиму лікування сприяє ризику появи резистентних форм ВІЛ та циркуляції їх серед населення.

Автором вперше визначено, що частота набутої резистентності ВІЛ до АРВП у дорослих ВІЛ-позитивних пацієнтів складає 6,0%; достовірно частіше ($p \leq 0,05$) такі МР ВІЛ до АРВП виявляються у ВІЛ-позитивних чоловіків ($59,70 \pm 2,25$)%, ніж у жінок ($40,3 \pm 2,25$)%, що пов'язано з біоповедінковими гендерними особливостями; вік більшості дорослих пацієнтів ($92,19 \pm 1,23$)% з МР ВІЛ коливається в діапазоні від 25 до 49 років; доведено, що тривалість АРТ та кількість замінів у схемах лікування ВІЛ-позитивних пацієнтів суттєвого впливу на частоту формування МР ВІЛ не мають; вагомим фактором щодо ризику формування МР ВІЛ є генетичний бар'єр АРВП: на тлі прийому препаратів класу ННІЗТ, із низьким генетичним бар'єром, частота формування МР ВІЛ складає 5,3%; прийом препаратів класу ІІІ, з високим генетичним бар'єром, супроводжується формуванням МР ВІЛ значно рідше – у 1,1% випадків.

Дисертантом встановлено, що частота набутої резистентності ВІЛ до АРВП у ВІЛ-позитивних дітей складає 5,0%; МР ВІЛ до нуклеозидних інгібіторів зворотної транскриптази (ННІЗТ) стають причиною вірусологічної неефективності лікування в 1,5% випадків; до інгібіторів протеази (ІІІ) – в 0,2% випадків; визначено, що у дітей формування МР ВІЛ до препаратів класів ННІЗТ та ІІІ відбувається достовірно ($p < 0,05$) рідше в порівнянні з дорослими пацієнтами, оскільки більшість дітей розпочинають АРТ з препаратів класу ІІІ з високим генетичним бар'єром.

Практичне значення одержаних результатів полягає у розробці Проекту Національної стратегії моніторингу резистентності ВІЛ до АРВП, який подано на затвердження в Кабінет Міністрів України.

Дисертантом удосконалено ефективність лікування ВІЛ-позитивних пацієнтів (дорослих та дітей) шляхом вибору АРВП з високим генетичним бар'єром; впроваджено моніторинг індикаторів раннього попередження резистентності ВІЛ в роботу закладів охорони здоров'я, які здійснюють супровід ВІЛ-позитивних пацієнтів. За участі дисертанта розроблено та впроваджено новий спосіб виявлення методом ПЛР контамінації медичного обладнання та інструментарію патогенними вірусами (в тому числі ВІЛ) із парентеральним шляхом передачі, що обґрунтовує спосіб забору матеріалу для виключення присутності в ньому інгібіторів ревертази (пат. 67620А Україна: МПК 7 С12Q1/04 / № 20031110427; заявл. 19.11.2003; опубл. 15.06.2004, Бюл. № 6, 2004 р.); спосіб визначення персистуючого вірусу грипу у ВІЛ-позитивних осіб в міжепідемічний по грипу період, що полягає у доцільності тестування методом ПЛР трьох видів біологічних зразків (пат. 43503 Україна: МПК (2009), А61К 39/00, А61К 35/76 (2009.01), А61К 39/145, G01N 33/577, С12Q 1/00, С12N 1/00 / № u200900614; заявл. 28.01.2009; опубл. 25.08.2009, Бюл. № 16, 2009 р.);

спосіб приготування зразків сухих крапель крові для проведення молекулярно-генетичних досліджень, який впроваджено в практику регіональних центрів профілактики та боротьби регіональних центрів профілактики і боротьби зі СНІДом МОЗ України.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації. Наукові положення, висновки та рекомендації є наслідком різнобічних наукових досліджень, виконаних автором при вирішенні завдань, які поставлені в роботі. Достовірність отриманих теоретичних та практичних розробок визначається використанням сучасних методів дослідження, значним обсягом досліджень та їх статистичною обробкою. Результати дослідження та наукові положення дисертації достатньо повно представлені в публікаціях у фахових виданнях.

Обсяг досліджень достатній для отримання обґрунтованих і достовірних даних. Робота виконана з використанням бібліосемантичного, епідеміологічних, молекулярно-генетичних, біоінформативних, статистичних методів дослідження. Всі результати проаналізовано за допомогою сучасних адекватних статистичних методів, їх достовірність не викликає сумнівів.

Аналіз структури та змісту дисертації. Дисертаційна робота складається з вступу з обґрунтуванням теми, огляду літератури, методів дослідження, 8 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел (527 найменувань, 71 із яких – кирилицею, 456 – латиницею), додатків. Робота ілюстрована 40 рисунками, 63 таблицями. Обсяг дисертації – 404 сторінки друкованого тексту.

У вступі автор висвітлює стан проблеми, формулює мету, завдання дослідження, обґрунтовує необхідність його проведення, наводить новизну, практичну значущість, впровадження результатів у роботу системи охорони здоров'я.

Огляд літератури відображає основні напрямки досліджень проблеми, що вивчається. Автором надано характеристику епідемічного процесу ВІЛ-інфекції в Україні, детально розглянуто біологічні властивості ВІЛ; наведено сучасну класифікацію популяції ВІЛ в світі; описано молекулярно-епідеміологічні особливості епідемії. Дисертантом розкрито механізми резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів. Детально висвітлено проблему ВІЛ-інфекції у дітей з точки зору лабораторної діагностики та лікування. Автором проаналізовано фактори, що сприяють ризику формування резистентності ВІЛ. На загал, дисертант характеризує систему епідеміологічного нагляду за ВІЛ-інфекцією в Україні.

У другому розділі «Матеріали та методи дослідження» наведено розгорнуте обговорення застосованих методичних підходів, викладено напрямки та обсяги досліджень. Проаналізовано достатню кількість первинної документації: 20 інформаційних бюлетенів «ВІЛ-інфекція в Україні», 8956 медичних карт амбулаторного хворого (форма № 025/0), 676 контрольних карт диспансерного хворого (форма № 030-5/0) пацієнтів, які знаходилися під диспансерним наглядом у клініці ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України» та закладах охорони здоров'я, що надають медичну допомогу ВІЛ-позитивним пацієнтам.

За допомогою молекулярно-генетичних досліджень виявлено: рівень ВН ВІЛ-1 у 1467 зразках плазми крові, наявність мутацій резистентності (МР) ВІЛ-1 в 1378 зразках, субтипovu структуру популяції ВІЛ-1 в 205 зразках сухої краплини крові.

Біоінформативні дослідження включали філогеографічний аналіз. Проаналізовано 448 нуклеотидних послідовностей ВІЛ-1, отриманих у 2012-2015 роках з зразків крові пацієнтів з 24 українських регіональних центрів СНІДу. Нуклеотидні послідовності геному вірусу вирівнювалися із застосуванням програмного забезпечення MEGA 7.0, інструментів REGAv3 та COMET.

Третій розділ присвячений вивченню субтипової структури популяції ВІЛ. Автором зазначено, що епідемічний процес ВІЛ-інфекції в Україні характеризується різними стадіями, які залежать від масштабів впровадження антиретровірусної терапії. На території України лікування у вигляді комбінованих схем АРТ почали застосовувати з 1990-х років, проте загальнодоступною по всій території терапія стала з 2004 р.

Дослідження у вказаному напрямку були розпочаті в 2001–2003 рр. із генотипування ВІЛ методом гетеродуплексного аналізу, продовжені у 2006-2007 та 2009-2011 роках методом секвенування геному ВІЛ.

Аналіз результатів секвенування геному ВІЛ дозволив автору зробити висновок, що в більшості випадків вірус відноситься до ВІЛ-1 субтипу А (89,2%), в 10,2% випадків – до субтипу В.

Дисертантом проведено філогеографічний аналіз послідовностей гену *pol* ВІЛ-1 субтипу А, отриманих при обстеженні 427 ВІЛ-позитивних пацієнтів з вірусологічною неефективністю АРТ, які знаходилися на АРТ у регіональних центрах профілактики і боротьби зі СНІД. Набір даних нуклеотидних послідовностей розподілили на 7 географічних зон, так званих «географічних локацій»: Центр, Схід (з урахуванням Донецької і Луганської областей, що беруть участь у військовому конфлікті), Захід, Південь, АР Крим, міста Київ та Одеса. Встановлено, що українські зразки були розташовані в одному кластері і мали походження від одного

попередника з ізолятами країн колишнього Радянського Союзу (Former Soviet Union – FSU). Автор зазначає, що переважання в Україні ВІЛ-1 субтипу А має деякі позитивні наслідки: завдяки переважанню субтипу А (менш агресивного у порівнянні із субтипом В з точки зору активності формування резистентності до АРВП) в Україні поки що немає необхідності проводити моніторинг первинної резистентності ВІЛ на постійній основі.

У четвертому розділі автор проводить аналіз впливу впровадження широкомасштабної АРТ на рівень первинної резистентності ВІЛ в Україні. Дисертантом зазначено, що в Україні дослідження з первинної резистентності ВІЛ проводилися двічі, в окремих регіонах країни. Отримані дані дозволяють зробити висновок, що в регіонах відбувається поширення резистентних форм ВІЛ, проте рівень первинної резистентності ВІЛ залишається низьким (<5%).

У п'ятому розділі наводиться ретельний аналіз набутої резистентності ВІЛ.

Автором встановлено, що тривалість антиретровірусної терапії суттєво не впливає на стійкість ВІЛ до АРВП. Вирішальне значення має генетичний бар'єр (ГБ) АРВП: на тлі прийому препаратів з низьким ГБ, таких як нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (ННІЗТ) EFV або NVP, частота формування МР ВІЛ дорівнює 5,3%; прийом препаратів з високим ГБ (інгібітор протеази – LpV/rtv) супроводжується формуванням МР ВІЛ значно рідше – в 1,1% випадків. Визначено, що МР ВІЛ до АРВП виявлялися достовірно частіше ($p \leq 0,05$) у ВІЛ-інфікованих чоловіків ($59,70 \pm 2,25\%$), ніж у жінок ($40,3 \pm 2,25\%$). Вік пацієнтів з МР ВІЛ у $92,19 \pm 1,23\%$ випадків знаходився в діапазоні від 25 до 49 років.

Детальний аналіз отриманих даних дозволив дисертанту надати соціально-поведінкову характеристику пацієнтів, які мали МР ВІЛ до АРВП. Частіше це чоловіки ($59,70 \pm 2,25\%$), у віці $35,8 \pm 4,1$ років, які знаходилися на схемі лікування, що складалася з 2 НІЗТ + 1 ННІЗТ та мали мутації резистентності ВІЛ в 190, 184, 65, 101 позиціях гену зворотної транскриптази.

Шостий розділ висвітлює проблему резистентності ВІЛ у дітей. Автором визначено спектр мутацій резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів.

Виявлено, що майже в 30% випадків вірусологічна неефективність терапії пов'язана з порушеннями режиму прийому ліків, тобто недостатня прихильність батьків до АРТ залишається суттєвою проблемою лікування ВІЛ-інфікованих дітей в Україні.

На основі молекулярно-генетичного аналізу геному ВІЛ встановлено субтипову структуру популяції ВІЛ, що циркулює серед ВІЛ-інфікованих

дітей. Виявлено переважання субтипу А ВІЛ-1 (91,3%), субтип В зустрічається у 8,7%.

У сьомому розділі на великому масиві даних автором вивчаються фактори, що мають вплив на формування резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів. Показано, що моніторинг індикаторів раннього попередження резистентності ВІЛ є важливим елементом національної концепції моніторингу резистентності ВІЛ в Україні, оскільки дозволяє виявити недоліки існуючих програм АРТ як на рівні окремих закладів, так і на національному рівні. Встановлено, що в більшості регіональних центрів профілактики і боротьби зі СНІДом України не практикується призначення ВІЛ-інфікованим пацієнтам моно- або бітерапії. Разом з тим, в багатьох регіонах визначається дефіцит АРВ-препаратів та проблеми з утриманням пацієнтів під диспансерним наглядом. Виявлено, що існуюча практика державних закупівель тест-систем для визначення рівня ВН ВІЛ потребує удосконалення, оскільки призводить до перебоїв у поставках реагентів та неможливості своєчасного виявлення вірусологічної неефективності лікування.

Восьмий розділ присвячений визначенню шляхів удосконалення епідеміологічного нагляду за ВІЛ-інфекцією. Дисертантом вперше в Україні розроблено Національну концепцію моніторингу резистентності ВІЛ з метою мінімізації ризику виникнення та поширення резистентних штамів ВІЛ, попередження впливу наслідків такого поширення на здоров'я населення України, забезпечення людей, які живуть з ВІЛ, належним лікуванням, зменшення економічного тягаря, пов'язаного з використанням неефективних схем терапії.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» Люльчук М.Г. проведено порівняльний аналіз отриманих результатів роботи з представленими іншими авторами даними.

Висновки відповідають поставленій меті та завданням дисертаційної роботи і є логічним завершенням проведених досліджень.

Результати дисертаційної роботи впроваджені в роботу закладів охорони здоров'я, що надають медичну допомогу ВІЛ-позитивним пацієнтам: Комунальних некомерційних підприємств «Одеський обласний центр соціально значущих хвороб» Одеської обласної ради та «Вінницький обласний клінічний центр профілактики та боротьби зі СНІДом Вінницької обласної ради», Комунального підприємства «Дніпропетровський обласний центр з профілактики та боротьби зі СНІДом» Дніпропетровської обласної ради, Хмельницького обласного центру профілактики та боротьби зі СНІДом, Організації колективного управління Чернівецький обласний центр профілактики та боротьби зі СНІДом.

Результати дослідження також використовуються в навчальному процесі кафедри вірусології НЦЦ «Інститут біології та медицини» та кафедри вірусології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика.

Результати роботи апробовані в повному обсязі. Основні матеріали дисертації доповідались та обговорювалися на міжнародних, всеукраїнських та регіональних конференціях.

Основний зміст роботи повністю висвітлений в опублікованих працях. За матеріалами дисертації опубліковано 40 наукових робіт, зокрема: 1 монографія, 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 квіртилів (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. Отримано 1 патент України на винахід, 2 патенти України на корисну модель.

Наукові положення, висновки, що сформульовані у дисертації, достатньо повно викладені в тексті дисертації та автореферату та в опублікованих працях. Дисертація оформлена у повній відповідності до існуючих вимог. Структура та зміст автореферату ідентичні тим, що наведені в дисертації.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення. Позитивно оцінюючи роботу дисертанта в цілому, вважаю за необхідне зазначити наступні зауваження:

1. Сьомий розділ дисертації перевантажений таблицями, що загромождає роботу.
2. Існують окремі стилістичні похибки, русизми.

Вище зазначені зауваження не принципові та не зменшують науково-практичне значення дисертаційної роботи Люльчук М.Г. і цінність одержаних результатів.

У порядку дискусії хотілось би отримати від здобувача відповідь на наступні запитання:

1. Яким чином передбачається впровадження національної стратегії моніторингу резистентності ВІЛ в Україні?

2. В роботі вказано, що незважаючи на майже одночасне потрапляння субтипу А ВІЛ-1 та субтипу В ВІЛ-1 в середовище наркоспоживачів, широкого поширення в Україні набув саме субтип А. Яка причина такої ситуації?

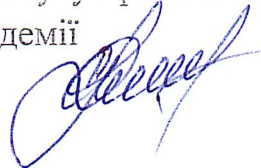
Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертаційна робота Люльчук Марії Геннадіївни «Моніторинг резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів в системі епіднагляду за ВІЛ-

інфекцією в Україні”, яка подана на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук є завершеним науковим дослідженням, що вирішує важливу науково-практичну проблему галузі епідеміології та має важливе значення у практичній охороні здоров'я.

За актуальністю, методичним рівнем, практичною значущістю, ступенем обґрунтованості наукових положень і висновків дисертаційна робота Люльчук Марії Геннадіївни 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 заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.02.02 – епідеміологія.

Офіційний опонент:

Начальник Науково-дослідного інституту проблем військової медицини
Української військово-медичної академії
доктор медичних наук, доцент



О.М.ІВАНЬКО

НАЧАЛЬНИК ВІЙСЬКОВО-ДОСЛІДНОГО
СКЛАДУ ТА
УКРАЇНСЬКОЇ
ПОЛКОВНИК

