



федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный исследовательский центр эпидемиологии и  
микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
«Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского»  
(ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России)

123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

Тел: 8 499-193-30-01  
Факс: 8 499-193-61-83

\_\_\_\_\_ № \_\_\_\_\_

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

<http://www.gamaleya.org>  
E-mail: [info@gamaleya.org](mailto:info@gamaleya.org)

## ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Демина Михаила Валерьевича,  
представленную на соискание ученой степени

кандидата биологических наук на тему: «Изучение мутационного статуса  
гена фосфотрансферазы цитомегаловируса и вируса герпеса человека 6,  
выделенных от реципиентов гемопоэтических стволовых клеток»  
по специальности 1.5.10 – «Вирусология»

### 00 Актуальность темы диссертационной работы

Инфекция, ассоциированная с цитомегаловирусом (ЦМВ) и вирусами герпеса человека 6А и 6В типа, возникшая у пациентов после химиотерапии или трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, является тяжелым осложнением и может приводить к удлинению периодов цитопении, что увеличивает вероятность присоединения других тяжелых инфекций и может привести к гибели пациента.

Ограниченность возможностей противовирусной терапии говорит об актуальности изучения механизмов развития резистентности к проведению такой терапии, в том числе с целью создания новых подходов в терапии и диагностике таких состояний. Таким образом, актуальность темы не вызывает

вопросов и ставит перед исследователями важные задачи по пониманию патогенеза, течения вирусной инфекции, вызванной герпесвирусами, механизмов формирования и диагностики устойчивости к противовирусным препаратам при вирусной инфекции.

## **01 Структура и содержание диссертационной работы**

Диссертационная работа изложена на 122 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка литературы. Работа иллюстрирована 13 рисунками, содержит 8 таблиц. Список литературы включает 117 литературных источников: 4 отечественных и 113 зарубежных источников.

В разделе “Обзор литературы” автор подчеркивает актуальность темы, четко формулирует цели и направления исследования, заявленные в диссертации, освещает научную оригинальность работы и ее прикладную ценность. Кроме того, в данном разделе представлены положения, которые будут вынесены на защиту.

Во втором разделе представлен анализ научной литературы, относящейся к теме исследования. В нем детально рассматриваются особенности структуры вирусов ЦМВ и ВГЧ-6, а также обсуждаются проблемы, связанные с развитием вирусных инфекций у пациентов, перенесших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток. Кроме того, раздел содержит сведения о существующих противовирусных средствах и механизмах развития резистентности к ним.

В третьем разделе представлена методология проведенного исследования, включая описание использованных материалов и методов. Раздел содержит подробную схему исследования, ключевые концепции, категории исследуемых пациентов и методологию исследования. Описан процесс подготовки образцов, выделения ДНК, амплификации, метод секвенирования и анализ полученных результатов.

В четвертой главе представлены результаты исследования и их обсуждение. В данной главе проведен анализ наличия мутаций, связанных с

устойчивостью к противовирусным препаратам, в гене UL97 вируса ЦМВ. Обнаружено, что уровень вирусной нагрузки в крови пациентов с такими мутациями был значительно выше, и прослеживается тенденция к тому, что “мутантные штаммы” вируса ЦМВ выявляются у пациентов с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток на более поздних сроках. Приведен анализ динамики возникновения мутаций в гене UL97 на примере трех пациентов, демонстрирующий, что появление мутации с высокой степенью резистентности сопровождается увеличением уровня вирусной нагрузки и, как следствие, проявлением клинических симптомов. Представлены результаты создания тест-системы для определения мутаций в гене UL97. Показано, что предложенная тест-система способна выявлять две наиболее распространенные мутации UL97, связанные с устойчивостью к ганцикловиру. С помощью этой диагностической системы определена частота обнаружения этих мутаций у пациентов, проходящих лечение противовирусными препаратами.

## **02 Научная и практическая значимость результатов**

Результаты, полученные Деминым М.В., представляют значительную ценность для совершенствования противовирусной терапии и разрешения актуальной научно-прикладной проблемы, имеющей существенное значение для ряда областей, включая вирусологию и гематологию. Все заключения автора, сформулированные на основе полученных результатов, и положения, подготовленные для защиты, обладают полной аргументированностью и надежностью, что подтверждается представленными экспериментальными данными.

## **03 Полнота опубликованности положений и результатов диссертации**

Результаты исследования были опубликованы в семи статьях, которые были размещены в рецензируемых научных изданиях. Текст автореферата диссертации полностью отражает описание проведенного исследования.

#### **04 Вопросы, замечания и комментарии к диссертационной работе**

В ходе ознакомления с работой у меня возникли следующие комментарии и вопросы к работе:

- 1) При исследовании результатов, полученных с использованием созданной тест-системы, в ряде случаев были получены некорректные данные (в 15% образцов). В ходе обсуждения было высказано предположение, что это может быть связано со сроком хранения образцов и с фактом их замораживания/размораживания, однако статистический анализ данных факторов не проводился. Возможно, на это также повлиял тип исследуемого материала. Необходимо провести данный анализ, поскольку это может иметь важное практическое и научное значение.
- 2) Также предлагается статистически подтвердить гипотезу о том, что вероятность выявления вирусов ВГЧ-6 и ЦМВ увеличилась с течением времени, в том числе из-за увеличения числа пациентов, направленных на проведение данного исследования, и самого количества проведенных исследований.

#### **05 Заключение**

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.10 – «Вирусология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Демин Михаил Валерьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – «Вирусология».

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук,

ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики в ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России,

Гараев Тимур Мансурович

Контактные данные:

тел.: +7 (963) 6316170, e-mail: [tmgaraev@gmail.com](mailto:tmgaraev@gmail.com)

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.01.03 – Молекулярная биология

Адрес места работы:

123098, г.Москва, ул.Гамалеи, д. 18,

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России Тел.: +7 (499) 193-30-01; e-mail: [info@gamaleya.org](mailto:info@gamaleya.org)

подпись Гараева Т.М. заверяю.

ученый секретарь

ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»

Минздрава России

к.б.н.

Сысолятина Е.В.