

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Костюшева Дмитрия Сергеевича на
тему «Принципы полной элиминации вируса гепатита В»,
представленной на соискание ученой степени доктора биологических
наук по специальности 1.5.10 – Вирусология**

Диссертация Костюшева Д.С. посвящена кардинальному решению проблемы хронического вирусного гепатита В (ХГВ) – заболевания, имеющего глобальное распространение, и сохраняющего свою актуальность в настоящее время и в перспективе ближайших десятилетий. Препаратов для элиминации вируса из организма при ХГВ в настоящее время нет, а прогрессия заболевания печени в фиброз, цирроз и рак печени связана с высоким уровнем смертности.

При выполнении диссертационного исследования автором были сделаны значимые для области гепатологии и вирусологии открытия, включая определение судьбы нуклеолитических разрывов в геноме вируса, определение механизмов реактивации вирусной инфекции, изучение особенностей реактивации вируса из метилированного состояния, а также разработаны принципы расщепления и элиминации вируса из клеток человека *in vitro* и на мышах *in vivo* с помощью различных молекулярных инструментов. Впервые показано, что удаления кольцевой ковалентно-замкнутой ДНК (ккзДНК) вируса – основной формы генома, оказывается недостаточно для элиминации вирусной инфекции. Эта форма вируса быстро восстанавливается из предшественника – кольцевой частично двуцепочечной ДНК. При этом вслед за обнаружением этой проблемы автором предложено и ее решение – использование препаратов, нарушающих образование кольцевой частично двуцепочечной ДНК. Длительные эксперименты с подобными ингибиторами и одновременным разрушением ккзДНК приводило к устойчивому снижению вирусной нагрузки, снижению уровней всех биомаркеров вируса. Разработан принцип инактивации и разрушения ккзДНК

при CRISPR-индукции экспрессии эндогенных цитидин-дезаминаз. При этом разработан способ контролируемой и регулируемой индукции APOBEC/AID за счет специфичных систем CRISPR-dCas9-p300 и att-sgRNA – специальных направляющих РНК, которые содержат биоинформатически предсказанные несовпадения нуклеотидов с мишенью, и, тем самым, изменяют уровень активации целевого гена. Этот подход позволяет сохранять противовирусные свойства и минимизировать токсические эффекты препаратов.

Изучено воздействие базальных уровней цитидин-дезаминаз на регуляцию ккзДНК ВГВ. Установлено, что белки APOBEC3A и APOBEC3B ограничивают увеличение пула ккзДНК на уровне базальной экспрессии. Разработан метод кратковременной активации экспрессии цитидин-дезаминаз семейства APOBEC/AID, проведён всесторонний анализ их влияния на параметры вирусной репликации, мутации вирусных геномов, а также на цито- и генотоксические эффекты.

По материалам диссертации опубликованы циклы работ, включая 16 оригинальных и 9 обзорных статей в журналах, индексируемых в системах Web of Science, Scopus и РИНЦ, опубликовано 31 тезисов докладов на конференциях.

Замечаний к выполненной работе нет. В ходе ознакомления с ней возникли следующие вопросы и пожелания, которые не носят принципиального характера, и не снижают практическую и фундаментальную значимость данной работы:

- 1) Нозерн-блоттинг и Саузерн-блоттинг были бы хорошим дополнением к большинству тестов по измерению вирусных интермедиатов при использовании различных ПЦР-методик;
- 2) По какой причине на модели мышей авторы не использовали разработанную концепцию элиминации вируса при помощи разрушения ккзДНК и блокады образования кольцевой частично двуцепочечной ДНК?

3) Возможно ли в настоящее время проведение биомедицинских исследований разработанных подходов на приматах/человекообразных обезьянах в качестве животных-моделей?

Заключение.

Диссертационная работа Костюшева Дмитрия Сергеевича на тему «Принципы полной элиминации вируса гепатита В» соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 №1539), а ее автор, Костюшев Дмитрий Сергеевич, заслуживает присвоения степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 - Вирусология.

Заместитель директора по эпидемиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 111123, Москва, улица Новогиреевская, дом 3а, телефон 8(495) 9749646; crie-@pcr.ru

доктор медицинских наук

Подколзин Александр Тихонович

Подпись доктора медицинских наук

Подколзина Александра Тихоновича, заверяю

Ученый секретарь Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

кандидат медицинских наук

Никитина Татьяна Станиславовна

10.01.2023 г.

111123, Москва, ул Новогиреевская 3а.

Тел.: +7(495)9749646; E-mail: crie@pcr.ru