

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе ФГБОУ ВО  
«Первый Санкт-Петербургский  
государственный медицинский

университет имени акад. И.П. Павлова»

Министерства здравоохранения

Российской Федерации

академик РАН, д.м.н., профессор

Ю. С. Полушин

2024 года



## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертации Матушкиной Валерии Александровны на тему: «Вариативность патогенетически обусловленных иммунодисрегуляторных нарушений при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и их влияние на выраженность клинических проявлений», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям: 3.1.22. Инфекционные болезни и 3.2.7. Иммунология.

### Актуальность темы исследования

Вспышка новой коронавирусной инфекции (COVID-19) бросила беспрецедентный вызов человечеству и науке. Научное сообщество быстро перенаправило исследовательские усилия на борьбу с пандемией COVID-19, мобилизуя знания из разных дисциплин для поиска инновационных решений и в рекордно короткие сроки были разработаны методы диагностики, клинического ведения пациентов и разработки вакцин против COVID-19. Несмотря на эти достижения, заболеваемость продолжает носить волновой характер с периодами подъема, сохраняется риск развития осложнений и тяжелых форм инфекции, а также растет обеспокоенность по поводу последствий у больных, перенесших новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) – негативных гетерогенных и мультиорганных симптомов, получивших развитие в острый период заболевания.

Медицинское сообщество продолжает изучать и систематизировать данные о вирусе SARS-CoV-2 и его свойствах, о патогенезе, проявлениях

осложнений в связи, с чем представленная диссертационная работа является актуальной.

Многочисленными исследованиями доказано, что тяжесть и исходы COVID-19 связаны с иммунными реакциями организма, что подчеркивает необходимость дальнейшего изучения всего спектра иммунных нарушений, вызванных вирусом SARS-CoV-2. Изучение молекулярных механизмов, связанных с дисрегуляцией иммунного ответа при COVID-19, и особенно функционирования нейтрофильных гранулоцитов, является актуальным и представляет несомненный теоретический и практический интерес. Новые данные о иммунопатогенезе заболеваний, лежащих в основе разнообразных клинических проявлений COVID-19 важны для улучшения процесса диагностики и разработки оптимальных схем лечения пациентов.

В связи с вышеизложенным, диссертационная работа Матушкиной Валерии Александровны, цель которой оптимизация диагностики и иммунокоррекции новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на основе клинко-экспериментального изучения вариантов иммунопатогенетических дисрегуляторных нарушений, является актуальной. Сформулированные в диссертации цель и задачи, полученные результаты и выводы в полной мере соответствуют паспортам научных специальностей: 3.1.22 – Инфекционные болезни (медицинские науки) и 3.2.7. – Иммунология (медицинские науки).

### **Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации**

По результатам проведенного диссертантом исследования выявлен комплекс взаимосвязанных нарушений интерферонов, натуральных киллеров, Т-лимфоцитов и нейтрофил-ассоциированных цитокинов и нейтрофильных гранулоцитов при COVID-19, что расширяет представление о механизмах иммунопатогенеза заболевания, лежащих в основе разных клинических проявлений COVID-19.

Впервые выявлены дефекты экспрессии функционально-значимых рецепторов лимфоцитов, дополняющие данные о причинах снижения их функций, возникающих под влиянием SARS-CoV-2.

Получены новые данные о нарушениях эффекторных функций нейтрофильных гранулоцитов, ассоциированные с изменением фенотипа и содержания функционально - значимых субпопуляций, что углубляет представление об участии нейтрофильных гранулоцитов в противовирусном иммунитете и ведущей роли в различных клинических проявлениях, наблюдаемых при COVID-19.

Определены дополнительные диагностические критерии тяжести COVID-19: повышение содержания субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов с высокой цитотоксической активностью и повышенной способностью формирования NETs и функцией супрессирования Т- лимфоцитов.

Диссертантом впервые разработан интеграционный диагностический критерий тяжести инфекционно-воспалительного процесса с учетом нейтрофильных гранулоцитов, формирующих NETs и вошедших в апоптоз в периферической крови.

В ходе изысканий установлены индикаторные биомаркеры тяжести заболевания и развития осложнений, таких как протромботические состояния, иммунотромбоз и эндотелиит сосудов – высокие уровни цитокинов IL8, IL18, IL17A и VEGFA.

Впервые автором установлены выраженные модулирующие эффекты *in vitro* синтетического тимического гексапептида и рекомбинантного интерферона альфа 2b, способствующие восстановлению негативных изменений функционально-значимых субпопуляций и устранению дефектов фагоцитарной, микробицидной активности нейтрофильных гранулоцитов, ограничению процессов формирования NETs и апоптоза у пациентов со среднетяжёлой формой течения COVID-19, что являются базой для разработки новых терапевтических стратегий.

## **Значимость полученных автором диссертации результатов для развития медицинской науки и практики**

Диссертационная работа Матушкиной В.А, помимо научного интереса, имеет важное практическое значение.

Практическую значимость представляют предложенные для клинической практики новые ранние диагностические критерии тяжести COVID-19: расчётный интеграционный диагностический критерий с учетом нейтрофильных гранулоцитов, формирующих NETs и вошедших в апоптоз в периферической крови; индикаторные биомаркеры – нейтрофил-ассоциированные цитокины IL8, IL18, IL17A, VEGFA, высокие уровни которых свидетельствуют о прогрессировании COVID-19 и возможности осложнений в виде протромботического состояния, иммуотромбоза и эндотелиита сосудов. Выявленные автором в результате клинико-экспериментального исследования данные позволяют оптимизировать процесс дифференциальной диагностики больных со среднетяжелой и тяжелой формами и тактики лечения COVID-19.

Также представляют практический интерес полученные *in vitro* данные о позитивных эффектах влияния рекомбинантного интерферона альфа 2b и тимического гексапептида на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов, являющиеся обоснованием, в дальнейшем, для разработки направленной иммуномодулирующей терапии с использованием отечественных лекарственных препаратов на их основе при COVID-19.

## **Достоверность результатов и степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Достигнутые результаты научно обоснованы, их достоверность обеспечивается репрезентативным объемом данных исследуемых пациентов и, базируется на качественном статистическом анализе достаточного количества проанализированных клинико - лабораторных и иммунологических данных, применением современных методов исследования, соответствующих поставленной цели и задачам.

В целом, диссертация освещает все основополагающие вопросы выбранной автором научной проблемы. Соблюдено внутреннее единство работы, это подтверждается четкой последовательностью в использовании методов и приемов анализа, логической связанностью выводов, отсутствием противоречий в методической базе. Всё вышеизложенное позволяет подтвердить достоверность полученных результатов, научных положений и выводов диссертационной работы.

### **Общая оценка структуры и содержания работы**

Форма и способ изложения материала диссертационной работы Матушкиной Валерии Александровны соответствует требованиям ВАК. Диссертация состоит из введения, обзора данных мировой и отечественной литературы по теме исследования, главы, в которой подробно излагаются методы диагностики, трех глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, отражены перспективы дальнейшей разработки темы, приведен библиографический список использованных источников литературы. Библиографический список содержит 364 публикации, в том числе 39 отечественных и 325 зарубежных авторов. Основные положения диссертационной работы иллюстрированы 19 таблицами и 30 рисунками.

В обзоре литературы Матушкиной В.А. представлены научные достижения последних лет, которые отражают современные представления о COVID-19, стратегиях уклонения SARS-CoV-2 от иммунитета, дисбалансе цитокинов, приводящих к усугублению тяжести течения заболевания, приводятся известные данные о роли нейтрофильных гранулоцитов в противовирусном иммунитете, в том числе против SARS-CoV-2, а также освещаются имеющиеся и перспективные терапевтические стратегии, направленные на устранение дисфункций нейтрофильных гранулоцитов при COVID-19.

Во 2-й главе описаны группы пациентов со среднетяжелой и тяжелой формами COVID-19, а также методы исследования, включающие как классические, рекомендованные для диагностики актуальными Временными методическими рекомендациями, так и современные иммунологические и культуральные методы.

В третьей главе собственных исследований изложена подробная клинико-лабораторная характеристика пациентов со среднетяжёлой и тяжёлой формами COVID-19 в острый период болезни. Заслуживает внимание то, что автором используется количественное описание как связи частоты представленности основных клинических симптомов в группах исследования с тяжестью течения заболевания, так и оценки взаимосвязи между выраженностью синдрома системного воспалительного ответа и тяжестью течения заболевания с развитием жизненных нарушений на основе расчета отношения шансов с доверительным интервалом. Кроме того, определен индекс коморбидности Чарльсона, позволяющий оценить уровень сопутствующей патологии, учитывающий количество и тяжесть 19-ти заранее определенных сопутствующих состояний. Также представлены результаты тщательного анализа лабораторных показателей (морфологических изменений показателей крови, общеклинических, биохимических) пациентов со среднетяжёлой и тяжёлой формами COVID-19, что позволило автору выявить новые ранние диагностические критерии тяжести и прогрессирования инфекции.

Четвертая глава посвящена выявлению всего комплекса взаимосвязанных нарушений иммунного гомеостаза, изучению сложных врожденных и адаптивных иммунных ответов, которые тесным образом сопряжены с особенностями различных клинических проявлений, вызванных инфекцией SARS-CoV-2. Особый интерес представляют новые данные о дисфункциях нейтрофильных гранулоцитов при COVID-19 связанных с нарушением рецепторных функций, ответственных за восприятие цитокинового и интерферонового сигнала, включение в воспалительный

процесс, обеспечение элиминации вируса различными эффекторными механизмами, которые характеризуются как гиперактивацией, участвуя в возникновении острого респираторного дистресс-синдрома, так и супрессией, что может обуславливать возникновение гнойно-септических осложнений.

В пятой главе исследования отражены экспериментальные данные *in vitro* о иммуномодулирующих эффектах иммуотропных субстанций рекомбинантного интерферона альфа 2b и тимического гексапептида, способствующие восстановлению негативно измененного фенотипа функционально-значимых субпопуляций, устранению дефектов фагоцитарной и микробицидной активности НГ, ограничению процессов формирования NETs и апоптоза у пациентов со среднетяжёлой формой COVID-19, что открывает возможные перспективы для создания новых методов иммунокоррекции при COVID-19.

В заключении диссертант анализирует полученные данные собственного оригинального исследования и сопоставляет их с работами других авторов.

Выводы и практические рекомендации полностью соответствуют поставленным задачам и результатам настоящего исследования.

Работа изложена научным языком, иллюстрирована оригинальными таблицами и рисунками.

В автореферате диссертации отражены основные положения и результаты диссертационного исследования и текст автореферата полностью соответствует диссертации.

### **Внедрение результатов исследования**

Несомненным плюсом работы является тот факт, что результаты данного исследования уже применяются в научно-диагностической работе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ, ГБУЗ «Инфекционная больница №2» министерства здравоохранения Краснодарского края, ГБУЗ Республики Адыгея «Центральной районной

больницы» Майкопского района, а также в рамках учебного процесса на кафедрах инфекционных болезней и эпидемиологии ФПК и ППС, клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ, инфекционных болезней, дерматовенерологии и фтизиатрии медицинского института Майкопского государственного технологического университета. Подготовлено и издано учебное пособие.

### **Рекомендации по использованию результатов работы**

Результаты проведенного исследования подтвердили, что выявленные ранние диагностические критерии для дифференциальной диагностики COVID-19 среднетяжелого и тяжелого течения: интеграционный диагностический критерий, подсчет количества нейтрофильных гранулоцитов, сформировавших NETs, и вошедших в апоптоз в периферической крови, являются информативными, не требующими дополнительного оборудования и экономических затрат, могут быть рекомендованы для включения в созданный ранее алгоритм лабораторной диагностики пациентов с COVID-19.

Определение уровней сывороточных индикаторных цитокинов IL8, IL18, IL17A и VEGFA, в свою очередь может быть рекомендовано для своевременной диагностики развития протромботического состояния, иммуотромбоза и эндотелиита сосудов.

Результаты, полученные экспериментально, являются многообещающими в поиске терапевтических стратегий, способных точно нацеливать нейтрофильные гранулоциты и их реактивность на восстановление и усиление врожденного иммунного ответа против SARS-CoV-2.

### **Апробация работы**

Материалы работы прошли широкую апробацию, доложены и обсуждены на 8 научно-практических конференциях различного уровня. По теме диссертационного исследования опубликовано 12 работ, в числе



которых 7 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикаций основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук по специальностям 3.1.22. Инфекционные болезни (медицинские науки) и 3.2.7. Иммунология (медицинские науки).

### **Замечания и вопросы**

Принципиальных замечаний к представленному диссертационному исследованию и автореферату нет. В процессе дискуссии по результатам исследования возникли следующие вопросы:

1. Чем обоснован ваш выбор метода определения NETs? Какие у данного метода достоинства и недостатки?
2. Возможно ли использование разработанного интеграционного диагностического критерия, оценивающего тяжесть течения COVID-19 для других инфекционно-воспалительных заболеваний?
3. Как Вы видите практическое применение интеграционного диагностического критерия для прогнозирования выбора терапии COVID-19?

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертация Матушкиной Валерии Александровны на тему: «Вариативность патогенетически обусловленных иммунодисрегуляторных нарушений при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и их влияние на выраженность клинических проявлений» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная научно-практическая задача, имеющая существенное значение для теории и практики инфекционных болезней, клинической иммунологии - оптимизация подходов к диагностике и терапии инфекционно-воспалительного процесса при новой коронавирусной

инфекции COVID-19, для оказания полноценной, качественной медицинской помощи пациентам.

Таким образом, по своей актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов, а также объему и уровню проведенного исследования диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», от 24.09.2013 г., № 842 (с изменениями от 25.01.2024 г., № 62) утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени, а её автор Матушкина Валерия Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 3.1.22.Инфекционные болезни и 3.2.7. Иммунология.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном заседании кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии и кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, протокол №5 от «17» июня 2024 года.

Заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России  
д.м.н., профессор

Дмитрий Анатольевич Лиознов

Заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России  
академик РАН, д.м.н., профессор

Арег Артемович Тотолян

Подпись руки заверяю: *М.А. Пищелёва*  
Специалист по кадрам  
М. А. Пищелёва  
17 июня 2024 г.

197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8,  
тел. 8(812) 338-78-95, e-mail: info@1spbgmu.ru; <https://www.1spbgmu.ru/ru/>