

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук Бургасовой Ольги Александровны на диссертационную работу Матушкиной Валерии Александровны «Вариативность патогенетически обусловленных иммунодисрегуляторных нарушений при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и их влияние на выраженность клинических проявлений», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям
3.1.22. Инфекционные болезни и 3.2.7. Иммунология**

Актуальность темы диссертации

Несмотря на глобальные достижения по разработке вакцин и улучшению методов диагностики и терапии, которые облегчают симптомы и прогноз у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), остаются еще пробелы в понимании патофизиологии COVID-19.

Накопленные к настоящему времени данные указывают на то, что тяжесть COVID-19 и связанная с ней частота осложнений обусловлены несбалансированным иммунным ответом на вирусную инфекцию, приводящую к повреждению тканей.

Механизмы, лежащие в основе проявлений заболевания, до конца не изучены, однако большинство данных свидетельствуют о том, что тяжелая форма COVID-19 возникает в результате сочетания иммунной дисрегуляции и истощения ключевых субпопуляций иммунных клеток, активации комплемента и взаимодействия между врожденной иммунной системой и каскадом свертывания крови, которые способствуют воспалительному процессу и тромбозам мелких и крупных сосудов, микрососудистым повреждениям, нарушению сердечной проводимости, неврологическим нарушениям, симптомам диареи и желудочно-кишечным кровотечениям, любое из которых может быть опасным для жизни.

Основываясь на этих фактах, выявление вариантов нарушений иммунного ответа представляет собой первую цель для патогенетического обоснования терапевтических вмешательств, направленных на их

восстановление, в этой связи тема научного исследования является актуальной и перспективной.

Научная новизна

Новизна полученных результатов не вызывает сомнения. Получены новые данные о иммунопатогенезе новой коронавирусной инфекции (COVID-19) – уменьшение уровня экспрессии функционально-значимых рецепторов на лимфоцитах, приводящее к снижению их противовирусной активности, определена роль нейтрофилов в различных вариантах комбинированных нарушений иммунной защиты при среднетяжелой и тяжелой формах заболевания. В результате комплексного анализа клинических, лабораторных и инструментальных данных выявлены и разработаны новые ранние диагностические критерии тяжести инфекционно-воспалительного процесса: интеграционный диагностический критерий, повышение количества NETs, и клеток в состоянии апоптоза, увеличение содержания субпопуляций гиперактивированных нейтрофилов с высоким цитотоксическим потенциалом и способностью формировать NETs в периферической крови, а также высокие уровни цитокинов IL8, IL18, IL17A ассоциирующиеся с развитием осложнений: протромботического состояния, иммунотромбоза и эндотелиита при COVID-19. Получены новые экспериментальные данные об эффектах влияния регуляторных гексапептида и интерферона на функции нейтрофилов в системе *in vitro*, которые позволяют обосновать патогенетическую целесообразность использования в клинической практике препаратов, на основе исследуемых субстанций для коррекции дисфункций нейтрофилов у пациентов при COVID-19.

Значимость полученных результатов для практики

Практическую значимость представляют выявленные новые ранние диагностические критерии тяжести COVID-19: расчётный интеграционный диагностический критерий, учитывающий нейтрофилы, формирующие NETs и ушедшие в апоптоз в периферической крови; увеличение содержания

нейтрофилов субпопуляций с фенотипом, который отражает повышенную способность нейтрофилов формировать NETs и нейтрофилов с фенотипом, обладающим функцией супрессирования Т-лимфоцитов. А также индикаторные биомаркеры – нейтрофил-ассоциированные цитокины IL8, IL18, IL17A, VEGFA, высокие уровни которых свидетельствуют о прогрессировании COVID-19.

Полученные в результате проведенных исследований *in vitro* экспериментальные данные о позитивном влиянии рекомбинантного интерферона альфа 2b и синтетического тимического гексапептида, позволят обосновать патогенетическую целесообразность использования в клинической практике иммуностропных препаратов, на основе исследуемых субстанций для коррекции дисфункций нейтрофилов, что предполагает оптимизацию комплексного лечения COVID-19.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Сформированные в диссертационном исследовании научные положения, выводы, практические рекомендации основаны на достаточном клиническом материале. Их достоверность не вызывает сомнений и подтверждается большим объёмом исследований, корректным формированием сравниваемых групп, соблюдением критериев включения и исключения из исследования, обоснованным выбором методов диагностики и обработки информации. Полученные данные логично интерпретированы. Задачи, сформулированные автором, успешно решены, цель исследования достигнута. Полученные результаты подробно изложены в тексте диссертации, представлены в виде таблиц и рисунков. Выводы и практические рекомендации вытекают из содержания работы, обоснованы и четко сформулированы. Диссертационная работа соответствует паспорту научных специальностей: 3.1.22. Инфекционные болезни (медицинские науки): пунктам 1, 2, 3 и 3.2.7. Иммунология (медицинские науки): пунктам 2,3,5,6,7.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность результатов проведенных исследований подтверждена соответствием использованных в работе научно-методических подходов и сведений фундаментальной науки результатам, полученным автором. Важно подчеркнуть, что полученные В.А. Матушкиной результаты основаны на методически правильном комплексе современных методов исследований, включающих метод проточной цитометрии, адекватные культуральные методы исследования. Кроме того, достоверность результатов проведенных исследований подтверждается достаточным количеством обследованных здоровых и больных с адекватной статистической обработкой полученных данных, а также сопоставлением результатов исследования с данными зарубежных и отечественных исследователей.

Содержание и оформление диссертации

Диссертация имеет традиционную структуру изложения, состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературных источников (364 научных работ, включающих 39 работ отечественных и 325 зарубежных авторов). Диссертация представлена на 203 страницах машинописного текста, иллюстрирована 19 таблицами, 30 рисунками.

Во введении показана актуальность работы, четко сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту. Выбор цели и задач исследования полностью отражает весомость работы в сфере научного поиска. При этом автором четко сформулированы конкретные задачи, направленные на достижение поставленной цели.

Обзор литературы включает описание основных механизмов и стратегии уклонения от иммунитета SARS-CoV-2, показывает роль нейтрофилов в противовирусном иммунитете и иммунопатогенезе COVID-19, обобщает имеющиеся научные данные и концепции, касающиеся терапевтических и профилактических стратегий при COVID-19.

В разделе «Материалы и методы исследования» представлены используемые методы инструментальной и специфической лабораторной диагностики, а также комплексные методы исследования противовирусного иммунитета, включая расширенное тестирование нейтрофилов у пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19, что позволило получить достоверные результаты.

В главах собственных исследований представлены основные достижения диссертанта, позволившие расширить представления о механизмах иммунопатогенеза COVID-19, выявить вариативность патогенетически обусловленных иммунодисрегуляторных нарушений лежащих в основе разных клинических проявлений заболевания, разработать экспериментальные подходы восстановления трансформированных фенотипов функционально-значимых субпопуляций НГ и функциональной активности НГ в системе *in vitro*.

В главе 3 дана клинико-лабораторная характеристика пациентов со среднетяжёлой и тяжёлой формами COVID-19 в острый период болезни. На основании результатов анализа полученных данных с применением статистических методов (отношение шансов с доверительным интервалом, расчёт индекса коморбидности Чарльсона) определена значимость клинических симптомов и коморбидных заболеваний в прогнозе неблагоприятного течения больных COVID-19, а также произведена оценка взаимосвязи между выраженностью синдрома системного воспалительного ответа на момент поступления в стационар и тяжестью течения заболевания, который при тяжёлом течении характеризуется одновременным сочетанием трех критериев воспалительной реакции.

В главе 4 проведены исследования для уточнения нарушений функционирования иммунной системы при вторжении вируса SARS-CoV-2 и выявления маркеров тяжести течения инфекционного процесса. Отдельного внимания заслуживает комплексный подход к оценке основных клинических, лабораторных и инструментальных данных, который позволил выявить

различные варианты нарушения, обосновать их связь с различными клиническими проявлениями заболевания, разработать методы выявления дисфункций, создать новые диагностические критерии - предикторы тяжести заболевания.

В главе 5 изложены результаты экспериментов *in vitro* по оценке влияния рекомбинантного интерферона альфа 2b и тимического гексапептида на выявленные дефекты функционирования нейтрофилов у пациентов со среднетяжелой формой COVID-19.

В главе «Заключение» проведен корректный анализ всех полученных результатов, что позволило автору обосновать основные положения диссертационной работы, выносимые на защиту, и сформулировать выводы. Диссертацию завершают 8 выводов, основанных на фактическом материале и соответствующих цели и задачам исследования. Выводы отражают основное содержание всех этапов работы.

По теме диссертационной работы опубликовано 12 научных статей из них 7 в журналах ВАК и в базах цитирования Scopus.

Материалы диссертации были представлены на Международном медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации» (г. Москва, 2020, 2022 гг.), EAACI Congress (Лондон, 2020 г.); EAACI Hybrid Congress (Мадрид-Краков, 2021г.); EAACI Congress (Чехия, Прага, 2022), на Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (г. Сочи, 2021г., 2022г., 2023г.).

Материалы диссертационной работы внедрены в научно-диагностическую работу Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ, ГБУЗ «Инфекционная больница №2» министерства здравоохранения Краснодарского края, ГБУЗ Республики Адыгея «Центральной районной больницы» Майкопского района.

Результаты исследования используются в учебном процессе 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. Кроме того, по результатам исследования подготовлено учебное пособие.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации, хорошо иллюстрирован, соответствует ГОСТ 7.0.11-2011.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний к диссертации и автореферату нет.

В порядке дискуссии хотелось получить ответ соискателя на следующий вопрос:

- Получены многообещающие экспериментальные данные по эффектам влияния гексапептида на функции нейтрофилов при COVID-19. Зависят ли эффекты от дозы препарата? Возможна ли экстраполяция полученных результатов в практику?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вышеизложенное позволяет заключить, что диссертационное исследование Матушкиной Валерии Александровны «Вариативность патогенетически обусловленных иммунодисрегуляторных нарушений при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и их влияние на выраженность клинических проявлений» представленное на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, выполненное под руководством доктора медицинских наук, профессора Городина Владимира Николаевича, доктора медицинских наук, профессора Нестеровой Ирины Вадимовны, является законченным научно-квалификационным трудом, в котором представлено новое решение задач, связанных с оптимизацией диагностики и терапии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на основе новых данных расширяющих представление о иммунопатогенезе заболевания и открывающих перспективы создания новых патогенетически обоснованных

