

**Отзыв**  
**официального оппонента доктора медицинских наук,**  
**профессора Балмасовой Ирины Петровны**  
**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 исследования**

Тот факт, что в XXI веке высокопатогенные коронавирусы (SARS-CoV и MERS-CoV, SARS-CoV-2) привели к возникновению глобальных респираторных инфекционных заболеваний не исключает их участие в новых вспышках в будущем, что обуславливает сохраняющийся интерес к более углубленному изучению вопросов иммунопатогенеза инфекции SARS-CoV-2, необходимого для проведения рациональной патогенетической терапии.

Иммунный ответ необходим для борьбы с коронавирусом, однако сегодня известно, что COVID-19 характеризуется развитием несбалансированного противовирусного иммунного ответа в виде недостаточного раннего синтеза интерферонов I типа (IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$ ) в начале заболевания с последующей гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, служащей причиной неадекватно сильного воспаления в легочной ткани с развитием острого поражения легких и респираторного дистресс-синдрома.

Известная сегодня иммунопатогенетическая роль врожденного иммунитета в защите от SARS-CoV-2 ассоциирована с патоген-распознающими рецепторами (TLR-3,7/8,9; RIG-I-подобные, лектиноподобные рецепторы С-типа, NOD-подобный рецептор), экспрессируемыми клетками врожденного иммунитета (моноцитами, макрофагами, дендритными клетками, нейтрофильными гранулоцитами и др.) для распознавания коронавируса и развития реакции воспаления. Однако воспалительный статус может быть чрезмерным, что и является одним из основных патогенетических факторов, определяющих заболевание COVID-19.

Следует признать, что несмотря на установленную сегодня при коронавирусной инфекции дефектность интерферонов типа I, стойкую антигемию, вызванную функциональным истощением NK-клеток, а также усиление презентации антигенов и мощный цитокиновый шторм, как результат неконтролируемой клеточной гиперактивации, роль врожденного иммунитета в патогенезе инфекции SARS-CoV-2 изучена недостаточно. В этой связи интерес представляет углубленное изучение патогенетической роли нейтрофильных гранулоцитов при COVID-19, как мощного провоспалительного клеточного звена врожденного иммунитета. Это может быть целесообразным как с точки зрения выявления новых диагностических критериев клинической тяжести заболевания, эффективности проводимой



терапии, а также способствовать определению подходов к патогенетически обоснованному управлению нежелательными гипервоспалительными реакциями в виде новых терапевтических стратегий у пациентов с этой опасной инфекцией, клинические симптомы и признаки которой варьируются от лихорадки и усталости до тяжелых респираторных осложнений и полиорганной недостаточности.

На основании изложенного можно признать несомненную актуальность диссертационного исследования Матушкиной В.А., целенаправленного на уточнение вариантов иммунодисрегуляторных нарушений, их роли в патогенезе COVID-19, влиянии на различную выраженность клинических проявлений, а также на экспериментальную (*in vitro*) разработку методов иммунокоррекции дефектов функционирования нейтрофильных гранулоцитов периферической крови.

Клинико-экспериментальное диссертационное исследование В.А. Матушкиной выполнено в полном соответствии с пунктами 1,2,3 Паспорта научной специальности 3.1.22. Инфекционные болезни и с пунктами 2,3,5,6,7 Паспорта научной специальности 3.2.7. Иммунология (медицинские науки).

#### **Научная новизна диссертационного исследования**

Научная новизна исследования Матушкиной В.А. очевидна и подтверждается выявлением: новых ранних диагностических критериев степени тяжести COVID-19; новых индикаторных биомаркеров осложнений COVID-19; нарушения экспрессии функционально-значимых рецепторов лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета; новых дополнительных диагностических критериев тяжести COVID-19, базирующихся на показателях функционирования НГ определенного фенотипа; иммуномодулирующих эффектов синтетического тимического гексапептида и рекомбинантного ИФНа2b в системе *in vitro*, в отношении негативно измененного фенотипа функционально-значимых субпопуляций НГ с устранением дефектов их функций у пациентов со среднетяжелой формой течения COVID-19.

#### **Теоретическая и практическая значимость**

Диссертационная работа В.А. Матушкиной имеет важное научное, теоретическое и практическое значение. Теоретическое значение результатов проведенного исследования состоит в уточнении механизмов иммунопатогенеза COVID-19 среднетяжелого и тяжелого течения, благодаря выявленному комплексу взаимосвязанных нарушений в системе врожденного и адаптивного иммунитета. При этом кроме уточнения причин дисфункций лимфоцитарного звена, в работе представлены приоритетные данные о роли фенотипически-функциональных характеристик НГ при коронавирусной инфекции среднетяжелой и тяжелой формы. Расширение представлений об иммунопатогенезе COVID-19 в совокупности с результатами экспериментальной оценки *in vitro* иммуотропных эффектов тимических гексапептидов и рекомбинантного ИФНа в отношении функциональных дефектов НГ раскрывает дальнейшие перспективы оптимизированного патогенетического лечения пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 за счет разработки таргетных терапевтических стратегий. Несомненную



практическую значимость имеют установленные автором ранние диагностические критерии тяжести COVID-19 в виде интеграционного диагностического критерия (ИДК), рассчитываемого с учетом особых популяций НГ крови (формирующих NETs, и вступивших в патологический апоптоз). Наряду с этим установлена диагностическая значимость фенотипа НГ с высокой цитотоксической активностью и способностью формирования NETs (CD16<sup>bright</sup>CD62L<sup>bright</sup>CD11b<sup>bright</sup>CD63<sup>bright</sup>) и фенотипа НГ, отличающегося способностью подавлять функции Т-лимфоцитов (CD16<sup>dim</sup>CD62L<sup>dim</sup>CD11b<sup>bright</sup>CD63<sup>-</sup>) при COVID-19 тяжелого и среднетяжелого течения. Большую практическую значимость также имеют выявленные автором биомаркеры прогрессирования и тромботических осложнений COVID-19 (высокие уровни IL8, IL18, IL17A, VEGFA).

#### **Обоснованность полученных автором результатов и выводов**

Обоснованность полученных автором результатов и выводов обусловлена использованным комплексом современных высокотехнологичных методов исследования, а также адекватной математической обработкой полученных результатов. Полученные автором результаты, отражают суть исследования, удовлетворяют требованиям и соответствуют названию диссертации, цели и поставленным задачам.

#### **Личный вклад автора**

Диссертант принимал личное участие на всех этапах работы: осуществлял выполнение экспериментальной лабораторной и клинической части исследования – комплексное иммунологическое исследование пациентов, анализ и статистическую обработку данных. Автором выполнен поиск и анализ литературных источников по исследуемой проблеме. Под руководством научных руководителей разработана методология исследования, дизайн исследования, написание текста и оформление диссертационной работы.

#### **Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом**

Диссертационное исследование В.А. Матушкиной выполнено на высоком научно-техническом и методическом уровне с применением общеклинических, биохимических, цитохимических и современных иммунобиологических методов (иммуноферментный анализ, проточная цитофлуорометрия), а также с использованием современных методов статистической обработки данных, что подтверждает обоснованность и достоверность результатов исследования.

Работа построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав с результатами собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендации и списка использованной литературы.

Во Введении автор грамотно и убедительно обосновывает актуальность изучаемой проблемы и степень ее разработанности; формулирует цель исследования и 5 конкретных задач для ее реализации; отмечает научную новизну и практическую значимость полученных в исследовании результатов исследования; конкретизирует 3 основных положения, выносимых на защиту;



аргументирует степень достоверности полученных результатов, а также уровень их апробации и внедрения.

Глава 1 (Обзор литературы) посвящена изложению современных представлений о противовирусном иммунитете и стратегиях уклонения SARS-CoV-2 от иммунного надзора, об особенностях цитокинового профиля при COVID-19 и роли НГ в иммунопатогенезе COVID-19, а также о современных терапевтических возможностях модулирования их дисфункций нейтрофильных гранулоцитов при данной инфекции. Всего для написания литературного обзора автором использовано 364 источника, из которых 325 являются зарубежными публикациями, при этом подавляющее большинство проанализированных отечественных и зарубежных публикаций опубликованы в последние 5 лет. При написании данной главы В.А. Матушкина демонстрирует способности грамотно оценивать данные современной научной литературы по вопросам патогенеза, диагностики и подходам к патогенетической терапии инфекции SARS-CoV-2, высказывать собственные суждения о рассматриваемых ключевых вопросах, и в конце каждого раздела обзора литературы формулирует заключения, подчеркивающие актуальность, перспективность и направленность дальнейших исследований в этих направлениях.

Во 2 главе диссертации (Материалы и методы) подробно охарактеризован объект исследования (истории болезни, протоколы лечения, периферическая кровь пациентов, инфицированных штаммом SARS-CoV-2 - В.1.617, «Дельта», с различными формами тяжести течения COVID-19. Количество и клиническая характеристика обследованных с учетом критериев их включения/исключения в исследование, позволило сформировать группы обследуемых, отличающихся формой тяжести течения заболевания (Группа 1 – 41 пациент со среднетяжелой формой COVID-19 и Группа 2 – 45 пациентов с тяжелой формой COVID-19. Группу сравнения (контроля) составили 30 условно здоровых добровольцев. Наряду с этим для блока экспериментальных культуральных исследований *in vitro*, проведенных с использованием периферической крови пациентов первой клинической группы, было сформировано две подгруппы, отличающиеся по виду используемого и оцениваемого потенциального иммуномодулятора (рекомбинантного ИФН $\alpha$ 2b и тимического гексапептида). Привлекателен общий дизайн исследования, в котором учтена его этапность, полный перечень и количество (3 183) проведенных исследований.

В данной главе также дана подробная характеристика использованных в исследовании клинических и лабораторных методов исследования, которые являются современными, высокоинформативными, соответствующими характеру проводимых исследований и свидетельствующими о высоком методологическом уровне работы.

Глава 3 диссертации, связанная с результатами собственных исследований, посвящена подробному изучению клинических особенностей пациентов со среднетяжелой и тяжелой формами течения COVID-19.



Глава 4 демонстрирует результаты исследования дисрегуляторных нарушений основных механизмов противовирусной иммунной защиты у пациентов с COVID-19. Данная глава состоит из трех разделов, исследование профиля интерферонов, про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов со среднетяжёлой и тяжёлой формами COVID-19 (раздел 4.1); особенностей нарушения клеточного и гуморального иммунитета у пациентов основных клинических групп, ассоциированных с блокадой системы интерферонов (раздел 4.2); дисфункций системы нейтрофильных гранулоцитов при среднетяжёлой и тяжёлой формах COVID-19, индуцированных дисбалансом провоспалительных нейтрофил-ассоциированных цитокинов и дефицитом интерферона альфа (раздел 4.3). Следует особо отметить многогранный характер исследования системы нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с COVID-19, включающей изучение пяти сложных фенотипов НГ и основные их эффекторные функции у пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением инфекции SARS-CoV-2.

Глава 5 диссертации, также связанная с результатами собственных исследований, посвящена экспериментальному перепрограммированию фенотипа субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов пациентов со среднетяжелой формой COVID-19, и показаны позитивные эффекты прямой коррекции основных функций НГ с помощью иммулотропных пептидов в системе *in vitro*.

Выбранная автором последовательность изложения результатов исследования представляется весьма логичной и удобной для их восприятия в целом, а также для обоснования заключительной части диссертации.

В заключительной части диссертации (Заключение) автором изложены основные результаты выполненного исследования работы, их всесторонний анализ в традиционной форме, и проведено сопоставление полученных результатов с привлечением данных других авторов.

Сформулированные выводы соответствуют данным, изложенным в диссертации, логично вытекают из результатов исследования и соответствуют цели и задачам научной работы В.А. Матушкиной

#### **Апробация и внедрение результатов в практику**

Материалы диссертации отражены в 12 печатных работах, 7 из которых опубликованы в ведущих рецензируемых научных изданиях и журналах. Основные положения диссертации и результаты работы были представлены, доложены и обсуждены на российских и международных конгрессах и конференциях.

Результаты диссертационного исследования Матушкиной В.А. послужили основой для оптимизации алгоритма лабораторной диагностики пациентов с COVID-19, включающих дополнительно:

- расчет интеграционного диагностического критерия (ИДК) с учетом количества НГ сформировавших NETs и НГ в состоянии апоптоза, а также определение уровня цитокинов IL8, IL18, IL17A;
- определение уровней сывороточных цитокинов IL8, IL18, IL17A и VEGFA как перспективных предикторов развития осложнений COVID-



19 (предтромботического состояния, иммунотромбоза и эндотелиита сосудов).

Разработанный методический подход был внедрен автором 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.

Кроме того, результаты исследования включены в учебный процесс (лекционный материал для студентов, ординаторов, аспирантов) ряда кафедр - 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 учебное пособие.

#### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат полностью отражает все основные результаты, научные положения, выводы и практические рекомендации, представленные в диссертационной работе.

#### **Замечания к диссертационной работе**

Принципиальных замечаний к диссертации и автореферату нет.

Подробное знакомство с диссертационным исследованием оставляет целостное впечатление, однако есть вопросы уточняющего характера:

1. Чем был обоснован выбор иммунотропных субстанций, используемых в экспериментах *in vitro* при изучении возможности их влияния на нейтрофильные гранулоциты при новой коронавирусной инфекции?
2. Почему в экспериментальных культуральных исследованиях *in vitro* с иммунотропными пептидами была взята кровь пациентов только со среднетяжелой формой заболевания?

#### **Заключение**

Изложенное позволяет заключить, что диссертационная работа Матушкиной В.А. «Вариативность патогенетически обусловленных иммунодисрегуляторных нарушений при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и их влияние на выраженность клинических проявлений» представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является научной квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Городина Владимира Николаевича и доктора медицинских наук, профессора Нестеровой Ирины Вадимовны, в котором представлено новое решение научных задач, связанных с оптимизацией диагностики и терапии вирусной инфекции, вызванной высокопатогенным вирусом SARS-CoV-2, уточняющее иммунопатогенез заболевания и открывающее перспективы разработки новых патогенетически



обоснованных целевых подходов к его терапии, что имеет существенное значение для инфекционных болезней и иммунологии.

Диссертация отвечает требованиям пункта 9 соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2023 г. (в действующей редакции Постановления Правительства Российской Федерации № 1786 от 26.10.2023 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.22. Инфекционные болезни и 3.2.7. Иммунология.

*Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015 г.), необходимых для работы диссертационного совета Д 64.1.010.01.*

Официальный оппонент,  
ведущий научный сотрудник лаборатории  
медико-биологических исследований  
Научно-исследовательского медицинского  
стоматологического института  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Российский университет медицины» Минздрава России.  
доктор медицинских наук, профессор,  
заслуженный деятель науки РФ

Балмасова  
Ирина Петровна

« 29 » 08 2024 г.

Подпись д.м.н., профессора И.П. Балмасовой заверяю,  
Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Российский университет медицины»  
Минздрава России, з.д.н. РФ,  
д.м.н., профессор



Васюк Ю. А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России). 127006, город Москва, улица Долгоруковская, дом 4.  
Тел: +7(910) 468-97-72, e-mail: iri.balm@mail.ru