

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, доцента, Савлевич Елены Леонидовны на диссертационную работу Абрамовой Натальи Дмитриевны на тему: «Особенности PRR опосредованных механизмов мукозального иммунитета при вирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.001.34 на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Актуальность темы диссертационной работы

Острые респираторные вирусные заболевания ежегодно уносят миллионы жизней, вызывают множество осложнений и часто сопровождаются стационарным лечением по всему миру, как в развитых странах, так и в развивающихся странах. Всесторонние эпидемиологические оценки респираторных заболеваний показывают, что инфекции дыхательных путей являются одной из самых распространенных причин заболеваемости и смертности во всем мире, что создает огромную нагрузку на службы здравоохранения. Новые респираторные вирусы, особенно РНК-вирусы, более патогенны, поскольку имеют в своем распоряжении механизмы адаптации к изменениям внешней и внутренней среды. Недавняя эпидемия COVID-19 обратила внимание многих ученых к иммунным механизмам защиты организма, особенно на уровне слизистых оболочек верхних дыхательных путей, где происходит первичный контакт с вирусом. Поскольку мукозальный иммунитет играет ключевую роль в предотвращении инфицирования и прогрессирования заболевания, его изучение, бесспорно, является актуальной темой исследований в настоящее время. Поэтому, изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в слизистых оболочках верхних дыхательных путей при коронавирусной инфекции позволит глубже понять патогенез COVID-19 и разработать более эффективные стратегии терапии.

Научно-квалификационная работа Абрамовой Натальи Дмитриевны посвящена актуальному направлению исследований – анализу

экспрессионного профиля и белковых молекул иммунного ответа в слизистых оболочках верхних дыхательных путей при COVID-19, у пациентов как в острой фазе среднетяжелого течения заболевания, так и у лиц, перенесших COVID-19 в период до 8 месяцев после выздоровления. Учитывая ограниченное количество исследований, посвящённых врожденным и адаптивным механизмам мукозального иммунитета при COVID-19 на уровне верхних отделов респираторного тракта, выбранная автором тема является обоснованной, значимой и востребованной для развития иммунобиологических подходов к лечению и профилактике коронавирусной инфекции.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

На основе детального анализа литературных данных диссертант обоснованно выбрала иммунологические маркеры и методы комплексного исследования, что определило направление основных исследований и позволило получить убедительные результаты.

Ключевые положения, выводы и рекомендации, представленные в научно-квалификационной работе Абрамовой Н.Д., подтверждены экспериментальными данными, основаны на значительном объеме фактических результатов, репрезентативном количестве образцов биоматериала и проанализированы с применением современных статистических методов.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность результатов, сформированных положений и выводов подтверждена достаточным объемом клинического материала (91 пациент), тщательном подходе к выбору лабораторных методов исследования, а также применением статистических методов обработки полученных результатов.

Автором впервые было показано изменения как экспрессионного профиля факторов врожденного иммунитета, так и изменения в белковой

продукции молекул sIgA и ряда цитокинов на локальном уровне у пациентов со среднетяжелым течением COVID-19 на 1-е сутки, 15-е сутки, 30-е сутки от начала заболевания и у лиц после клинического выздоровления в пределах до 8 месяцев. Обнаружено увеличение экспрессии молекулы противомикробного пептида *HBD2* на уровне слизистой оболочки ротовой полости. Было проанализировано изменения в уровне экспрессии генов *TLR3*, *TLR7*, *IL1 β* , *IL28*, *IL18*, *TNF α* в зависимости от дня заболевания, а также выявлены изменения экспрессионного профиля молекул врожденного иммунитета слизистых оболочек верхних дыхательных путей у лиц, перенесших заболевание, вызванное вирусом SARS-CoV-2, при наличии или отсутствии сопутствующих хронических заболеваний сердечно-сосудистой или дыхательной системы.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Практическая значимость работы состоит в том, что соискателем был разработан алгоритм изменения в экспрессионном профиле молекул локального иммунитета слизистых оболочек верхних дыхательных путей, который показывает изменения в экспрессии *TLR3*, *TLR7*, *IL1 β* , *IL28*, *IL18*, *TNF α* в зависимости от штамма вируса SARS-CoV-2, от дня заболевания, времени после выздоровления после перенесенного COVID-19, а также в зависимости от наличия хронической патологии респираторной и сердечно-сосудистой систем. Данный алгоритм может быть применен при разработке новых диагностических биомаркеров для повышения эффективности скрининга и мониторинга уязвимых групп населения и внедрения персонализированного подхода к лечению в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующих хронических заболеваний.

Теоретическая новизна представлена в виде описания проведенного анализа экспрессионного профиля рецепторов *TLR3* и *TLR7* эпителиальных клеток, цитокинового профиля *IL1 β* , *IL18*, *IL28*, фактора некроза опухоли

(*TNF α*), слизистой оболочки полости носа, ротоглотки и полости рта, а также, sIgA и белков IL2 и IL3. Описаны изменения изучаемых лабораторных маркеров в период 4 месяцев, 6 месяцев и 8 месяцев после выздоровления, сравнены группы пациентов в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующих хронических заболеваний сердечно-сосудистой или дыхательной системы.

Основные научные положения, выводы и практические рекомендации диссертации нашли применение и включены в программы обучения студентов при подготовке специалистов по направлениям «Медико-профилактическое дело», «Лечебное дело», «Педиатрия», «Фармация», «Стоматология» на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А.А. Воробьева Института общественного здоровья имени Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Соответствие диссертации паспорту специальности

Результаты проведенного исследования соответствуют пункту п. 2 «Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии» и п. 6 «Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов» паспорта специальности 3.2.7. Иммунология (медицинские науки).

Полнота освещения результатов диссертации в печати

По результатам исследования автором опубликовано 15 печатных работ, отражающих содержание диссертации, в том числе 4 статьи, включенные в международные базы данных. 1 статья, включенная в Перечень ВАК при Минобрнауки России; 1 монография, 6 иных публикаций рецензируемых научных изданиях, а также 3 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Содержание и оформление диссертационной работы

Текст научно-квалификационной работы представлен в логически стройной и последовательной форме, включая все необходимые разделы. Диссертация оформлена на 126 страницах машинописного текста и содержит введение, обзор литературы, описание используемых материалов и методов, представление результатов исследования и их интерпретацию, заключение, основные выводы, практические рекомендации, перечень сокращений и условных обозначений, а также список использованных источников. В работе приведены 5 таблиц и 35 иллюстраций. Библиографический список насчитывает 170 источников, среди которых 14 отечественных и 156 зарубежных.

В главе «Введение» обоснована актуальность темы исследования, четко сформулированы цель и задачи, раскрыта научная новизна и практическая ценность работы. Описаны применяемые ключевые положения, выдвигаемые на защиту, а также рассмотрены вопросы апробации и личного вклада автора в исследование.

В первой главе автор представляет развернутый обзор литературы по теме исследования, структурированный в три под главы. Анализ начинается с рассмотрения актуальных литературных данных о новой коронавирусной инфекции. Подробно изучены происхождение, распространение и морфологические особенности вируса SARS-CoV-2, а также детально изложены ключевые клинические проявления и иммунопатогенез COVID-19.

Особое внимание в обзоре уделено механизмам мукозальной иммунной защиты, включая роль врожденного и адаптивного иммунитета при заболевании COVID-19. Литературный анализ отражает актуальное состояние научных знаний по рассматриваемой проблеме.

Во второй главе подробно описаны методологические аспекты исследования. Представлены характеристики клинических групп, принятый дизайн исследования, используемые методы и статистическая обработка данных. Применяемые иммунологические методики, включая выделение РНК методом сорбции на силикагеле, реакцию обратной транскрипции,

дизайн праймеров для полимеразной цепной реакции в реальном времени и методология проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, иммуноферментный и мультиплексный иммуноферментный анализ, соответствуют современным научным стандартам и обеспечивают высокую точность и достоверность результатов.

Третья глава, озаглавленная «Результаты и обсуждение», представляет собой обобщение авторских исследований и состоит из шести разделов. В этой главе последовательно изложены данные о локальном иммунном ответе, включая исследование рецепторных и эффекторных молекул врожденного иммунитета в группе здоровых лиц, в группе со среднетяжелым течением заболевания COVID-19, и у лиц, перенесших исследуемую инфекцию. Автор установила, что в первые дни заболевания отмечается снижение экспрессии генов Toll-подобных рецепторов (*TLR3*, *TLR7*), у лиц со среднетяжелым течением заболевания COVID-19. Автором была выявлена разнонаправленная экспрессия эффекторных молекул на локальном уровне у лиц со среднетяжелым течением заболевания COVID-19 в разные периоды заболевания. В то время как на уровне слизистой оболочки полости носа экспрессия *IL1 β* , *TNF α* , *IL28* повышалась, на уровне ротоглотки было выявлено их общее снижение.

Автор показала тенденции в изменении экспрессии генов исследуемых молекул в зависимости от актуальных штаммов на момент забора материала. Так было описано, снижение экспрессии *TLR3*, *IL28* на уровне эпителиальных клеток полости носа при инфицировании Дельта штаммом вируса SARS-CoV-2. При инфицировании Гамма штаммом была выявлена тенденция к увеличению продукции *IL1 β* на уровне эпителиальных клеток ротоглотки.

Далее соискатель приводит результаты исследования экспрессионного профиля факторов врожденного иммунитета в области входных ворот инфекции у лиц, перенесших COVID-19. Через 4 месяца после

выздоровления было обнаружено снижение экспрессии *TLR3*, *TLR7* и *IL28* на уровне слизистых оболочек ротоглотки, при увеличении экспрессии этих молекул на уровне полости носа в тот же период. В своей работе автор показала тенденцию к изменению профиля экспрессии провоспалительных цитокинов *IL1β* и *TNFα* у лиц, перенесших инфекцию, вызванную вирусом SARS-CoV-2 с сопутствующими хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой или дыхательной системы в анамнезе. Автор выявила тенденцию к увеличению уровня экспрессии *IL1β* на 8 месяцев после заболевания COVID-19 на уровне эпителиальных клеток ротовой полости у лиц с хронической патологией верхних и нижних дыхательных путей.

Также автор выявил увеличение продукции цитокинов *IL2*, *IL3* на уровне слизистой оболочки ротоглотки в группе лиц со среднетяжёлым протеканием заболевания COVID-19. Также было выявлено увеличение продукции sIgA специфичного к вирусу SARS-CoV-2 на уровне слизистых оболочек ротовой полости у лиц, перенесших заболевание COVID-19.

Результаты сопоставлены с данными других исследований и дополнены графическими иллюстрациями и таблицами. В заключительной части автор не только подводит итоги, но и предлагает схему изменений экспрессионного профиля молекул врожденного иммунитета. Выводы исследования сформулированы объективно и обоснованно, в полном соответствии с поставленными задачами.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью отражает основные положения и выводы диссертационной работы Н.Д. Абрамовой.

Замечания по содержанию и оформлению диссертации

В представленной работе имеются отдельные стилистические погрешности, не носящие принципиальный характер, которые не снижают научной и практической значимости исследования. Замечаний по

диссертационному исследованию нет, но тем не менее при ознакомлении работой возник ряд вопросов для обсуждения:

1. В тексте диссертации в разделе «Материалы и методы» описана традиционная методика взятия эпителиальных клеток слизистой оболочки полости носа, в дальнейшем при описании результатов указываются маркеры носоглотки, которая является другой анатомической областью. С чем связана эта разница в терминологии.

2. Какая сопутствующая патология сердечно-сосудистой и дыхательной системы встречалась в группах сравнения у лиц, перенесших заболевание COVID-19?

3. Как можно объяснить увеличение количества мРНК *TNF- α* в полости носа на 30-й день заболевания, после его уменьшения на 15 день заболевания и низкое количество этого цитокина в ротоглотке на протяжении всего периода заболевания?

4. Как Вы думаете, почему в группе лиц после перенесенного заболевания COVID-19 происходит увеличение мРНК *IL28*, *TNF α* в полости носа с одновременным их снижением в ротоглотке в одинаковые периоды наблюдения?

Заключение

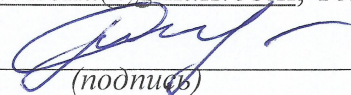
Таким образом, диссертационная работа Абрамовой Натальи Дмитриевной на тему: «Особенности PRR опосредованных механизмов мукозального иммунитета при вирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2», выполненная под руководством д.м.н., профессора, чл.-корр. РАН Свитич Оксаны Анатольевны на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи - изучение иммунологических факторов врожденного и адаптивного мукозального иммунитета при заболевании COVID-19, имеющей существенное значение для иммунологии, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном

государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023г., приказом №0787/Р от 24.05.2024г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Абрамова Наталья Дмитриевна заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 3.2.7. Иммунология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, доцент, врач-оториноларинголог
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Клиническая Больница»

Управления делами Президента Российской Федерации
107143, Москва, Открытое шоссе, квартал 40.
savllena@gmail.com, тел : +7 985 145-27-45



Савлевич Елена Леонидовна

Специальность: 3.2.7. Иммунология (14.03.09), 3.1.3. Оториноларингология (14.01.03) Согласно на обработку персональных данных.

19 03 20 25 г.

Подпись доктора медицинских наук, доцента, Савлевич Елены Леонидовны заверяю:

Начальник отдела кадров ФРБУ "Клиническая больница" Гаврилов врач ФРБУ "Клиническая больница" Амосова Н.А.



Федеральное государственное бюджетное учреждение Клиническая больница Управления делами Президента Российской Федерации, 107143, Москва, Открытое шоссе, квартал 40, Тел: +7 (495) 620-83-83, email: info@presidentclinic.ru, сайт : <https://presidentclinic.ru>