

О Т З Ы В ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Петра Казимировича Яблонского на диссертационную работу Шкурникова Максима Юрьевича «Роль генотипа главного комплекса гистосовместимости класса 1 и профиля микроРНК в патогенезе тяжелой и крайне тяжелой форм COVID-19», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

Актуальность избранной темы

Новые вирусные заболевания, которые, как показала новая коронавирусная инфекция COVID-19, способные быстро превратиться в пандемию и унести практически за 3,5 года жизни более 7 млн. людей по всему миру, являются угрозой для биобезопасности мира и Российской Федерации. Появление COVID-19 поставило перед специалистами здравоохранения задачи, связанные с быстрой диагностикой и оказанием медицинской помощи больным. В настоящее время продолжается интенсивное изучение клинических и эпидемиологических особенностей заболевания, разработка новых средств его профилактики и лечения.

До сих пор не решены вопросы вклада генотипа главного комплекса гистосовместимости класса 1 в патогенез COVID-19, отсутствуют обобщенные фундаментальные и прикладные знания по использованию результатов генотипирования в клинической практике.

Данные аспекты и определяют высокую актуальность диссертационной работы Шкурникова Максима Юрьевича «Роль генотипа главного комплекса гистосовместимости класса 1 и профиля микроРНК в патогенезе тяжелой и крайне тяжелой форм COVID-19», посвященной актуальной проблеме поиска патофизиологических особенностей иммунологического ответа на вирус SARS-CoV-2 и новых факторов прогноза тяжелого течения заболевания, вызванного данным вирусом.

Изучение взаимосвязи генотипов клеток иммунной системы, например в части молекул главного комплекса гистосовместимости класса 1, с тяжестью COVID-19, особенностями формирования иммунитета к вирусу, эволюцией SARS-CoV-2, влияющей на его иммуногенные эпитопы требует использования современных методов компьютерного моделирования и математического анализа огромного массива данных (bigdata), что не было доступно до последнего времени.

Цель и задачи, решаемые Шкурниковым М.Ю. в своей диссертационной работе, имеют высокую практическую востребованность новых разработок в представленной области в условиях продолжающегося персистирования вируса SARS-CoV-2 в человеческой популяции.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование выполнено с использованием хорошо охарактеризованной репрезентативной выборки пациентов (более 400), дизайн исследования соответствует принятой методологии проведения исследований такого типа, источники материалов и данных также не вызывают сомнения (ГБУЗ «ГКБ № 15 ДЗМ» и т.д.), выбранные автором статистические методы анализа современны и адекватны.

На защиту автор выносит 7 основных выводов и 2 практических рекомендаций. Все они сопоставимы с данными литературы и логично вытекают из проведенных автором исследований. Выводы сделаны на статистически достоверных данных, получивших также обоснование со стороны современных знаний в области патофизиологии.

Они неоднократно доложены и обсуждены экспертами и специалистами на различных профильных научных симпозиумах и конференциях, а также были представлены в 23 научных статьях,

опубликованных автором, в том числе 18 – в журналах и изданиях, входящих в международные базы данных и системы цитирования Scopus и Web of Science. Обоснованность практических рекомендаций подтверждается изданными методическими рекомендациями по тактике поведения врача на основании результатов молекулярно-генетических исследований при обследовании пациентов, инфицированных коронавирусной инфекцией.

Таким образом степень обоснованности научных положений, выносимых на защиту, сформулированных выводов и рекомендаций высокая и позволяет рекомендовать их к клиническому использованию, а также использовать в дальнейших патофизиологических исследованиях по изучению особенностей вируса SARS-CoV-2 и разработке новых вакцин.

Научная новизна и научно-практическая значимость исследования, и достоверность полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы не вызывает сомнения. Автором впервые была исследована патофизиологические особенности формирования специфического иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 с участием молекул главного комплекса гистосовместимости класса 1 (HLA-I) и микроРНК ткани легких. Автором также получены уникальные данные о влиянии микроРНК ткани легких на эволюцию генома SARS-CoV-2.

В целом, результаты, полученные автором, без сомнения являются новыми научными знаниями в области фундаментальной медицины и физиологии, иммунологии и терапии вирусных инфекций.

Научно-практическая значимость работы также несомненна. Шкурниковым М.Ю. впервые в России разработан способ оценки риска развития тяжелой и крайне тяжелой форм COVID-19 на основе анализа генотипа HLA-I у пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-

CoV-2. Проведенное исследование клинической вариации метода позволяет рекомендовать его для клинической практики как информативный тест предсказания тяжести течения болезни и смертности от нее. Полученные результаты позволят разработать подходы к персонализации лечения COVID-19. Автором по результатам собственных исследований получены 3 патента на изобретения и свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Результаты исследования в дальнейшем могут быть использованы при разработке противовирусных препаратов на основе РНК-интерференции, а также при разработке прогностических тест-систем для оптимизации тактики лечения пациентов с COVID-19.

Клиническое исследование проведено с соблюдением этических норм (протокол был одобрен локальными этическими комитетами соответствующих медицинских учреждений). В исследование вошли материалы, полученные в 1, 3 и 4 волны пандемии (2020-2022 гг.), что позволило в мировом масштабе накопить огромный объем данных об эволюции генома SARS-CoV-2 и попытаться определить генетические детерминанты восприимчивости человека к нему, а автору исследования – получить результаты, вносящие значительный мировой вклад в развитие патофизиологических исследований вирусных заболеваний. Используемые современные методы компьютерного моделирования и математического анализа позволили на огромном массиве данных о геноме вируса и информации о пациентах установить патофизиологические и иммунологические закономерности формирования иммунитета к данному вирусу, выявить иммунодоминантные эпитопы вируса.

Таким образом, представленный объем материала и его качество, использование современных методов анализа, сопоставимость собственных результатов с данными научной литературы являются достаточными для

решения поставленных целей и задач, обеспечивают достоверность результатов исследования.

Оценка содержания диссертации и ее завершенности в целом

Диссертационная работа выстроена по классическому стилю изложения и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырех глав собственных результатов и их обсуждения, выводов, заключения, списка используемых сокращений и списка использованной литературы, приложения.

Работа изложена на 216 страницах машинописного текста и иллюстрирована 20 таблицами и 32 рисунками. Список цитируемой литературы содержит 419 литературных ссылок, в том числе 26 отечественных. Имеется 1 приложение.

Литературный обзор содержит анализ большого числа современных научных публикаций в данной области (около 300), написан академическим языком, легко читается и логично выстроен. Он посвящен вопросам патогенеза и молекулярно-генетическим особенностям новой коронавирусной инфекции COVID-19. В нем автор подробно останавливается на патофизиологических и клинических особенностях течения новой коронавирусной инфекции и его прогнозирования, включая тяжелое и крайне тяжелое течение COVID-19, а также механизмах формирования врожденного и приобретенного иммунитета в борьбе с SARS-CoV-2. Особое внимание уделено предметам исследования – описанию роли генотипов HLA-I и микроРНК в данном процессе, молекулярно-генетическим особенностям вируса. При этом, автор обращает внимание, что в настоящее время практически отсутствуют опубликованные результаты исследований, посвященные разработке подходов к прогнозу тяжести течения COVID-19 у отдельного человека, что

определяет актуальность и своевременность проведенного им исследования.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно описывается методология комплексного подхода к решению вышеописанных проблем и дизайну проведенного исследования. В работе использованы как материалы и данные, полученные от пациентов, которые были госпитализированы в российские медицинские учреждения по поводу COVID-19, так и данные международных баз данных GISAID, GenomicData Commons DataPortal и других. Подробно описаны использованные в работе современные методы молекулярной биологии, иммунологии и биоинформатического анализа. Статистический анализ проведен в среде R. К недостаткам работы можно отнести отсутствие четкого описания критериев включения при формировании групп сравнения пациентов и контрольной группы. Так автор указывает, что в исследовании были использованы сплошной и выборочный способы проведения наблюдения (стр.53) и таблица 1. Использовался ли принцип рандомизации?

Результаты собственных исследований представлены в 3-6 главах.

Третья глава посвящена анализу взаимосвязи HLA-1 с тяжестью COVID-19 по результатам собственного исследования. Автором был разработан способ оценки риска развития тяжелого течения COVID-19, который основан на генотипировании аллелей генов HLA-A, HLA-C и оценки риска с помощью специально разработанного программного обеспечения «Аффисенс» (ПО). На выборке пациентов, умерших от COVID-19 в возрасте до 60 лет и старше 60 лет, данный метод показал повышение точности получаемых оценок риска. Эти находки имеют большое клиническое значение для определения врачом дальнейшей тактики лечения и персонализации назначаемой терапии. При этом считаю возможным отметить, что данному положению можно было-бы посвятить

более трех страниц текста и в приложении к тексту диссертации указать анализируемые программой «Аффисенс» параметры (клинические, лабораторные, лучевые и лечебные) и рекомендуемую динамичность оценки.

В четвертой главе автор анализирует влияние на тяжесть течения COVID-19 различных вариантов вируса SARS-CoV-2, а также особенности генотипа HLA-1 в 1, 3 и 4 волны заболевания, презентации пептидов вирусом молекулам HLA-1. Представлены результаты собственных исследований мутаций в геноме на примере клинических вариантов AY.122 и B.1.617.2 штамма Дельта SARS-CoV-2. Показано, что несмотря на быстрое мутирование вируса в настоящее время мутации чаще всего не затрагивают иммунодоминантные эпитопы, что свидетельствует о высокой устойчивости Т-клеточного иммунитета к эволюции вируса. При этом самые современные результаты характеристики клинических изолятов штамма Дельта SARS-CoV-2 сопровождаются ограниченными данными по наличию сопутствующих заболеваний. Было проведено сравнительное исследование генотипов ГКГС-I у госпитализированных пациентов с COVID-19 первой и третьей волн пандемии. Изучены генотипы 147 больных (первая волна) и 219 (третья волна). Обнаружено значительное увеличение доли пациентов с обструктивной болезнью легких, ожирением и артериальной гипертензией в третьей волне COVID-19. При этом необходимо указать, что у большинства пациентов одновременно было диагностировано несколько коморбидных состояний с необходимостью использования в анализе увеличивающего коэффициента.

Пятая глава описывает роль микроРНК в регуляции взаимодействия вируса и человека. Автором показано, что мутации приводят к значительному снижению регионов связывания вируса с микроРНК ткани легких, что может быть связано с эволюционным давлением микроРНК на

геном вируса SARS-CoV-2. Анализ циркулирующей микроРНК показал, что у выздоровевших и не выздоровевших пациентов значительно изменилась экспрессия 46 микроРНК, в том числе представленность hsa-miR-451a ассоциировалась с уровнем гемолиза в образцах крови, а hsa-miR-19b-3p и hsa-miR-25-3p значительно повышена в группе выздоровевших пациентов. Выявленную ассоциацию автор закономерно рекомендует использовать в оценке прогноза исхода заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2.

В шестой главе автором приведены доказательства, что способ оценки риска развития тяжелого течения COVID-19 имеет клиническую значимость. На выборке из 145 пациентов чувствительность разработанного автора способа по отношению к прогнозу тяжести течения COVID-19 составила 0,14, а специфичность – 0,97, а по отношению прогноза летального исхода COVID-19 – 0,27 и 0,94 соответственно. Анализ представляет значительный научный и клинический интерес, но опять не описан принцип формирования выборки из 145 переболевших ранее пациентов, не учитываются важные данные о длительности болезни, сроках госпитализации, проведенной терапии и ее эффективности, остаточных изменениях и функциональных нарушениях.

В целом главы по результатам собственных исследований изложены четко и последовательно, иллюстрированы рисунками и таблицами.

Приложение к диссертационной работе содержат перечни аллелей HLA-1, а также ряд дополнительных данных, анализируемых в исследовании.

Выводы и практические рекомендации вытекают из проведенных исследований, соответствуют цели и задачам исследования. Предложенные автором диссертационной работы решения поставленных вопросов аргументированы и являются новаторскими по сравнению с другими известными решениями.

Автореферат полностью отражает основные результаты диссертационной работы.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертации нет. Имеющиеся стилистические неточности и немногочисленные орфографические ошибки не имеют принципиального значения и не уменьшают значимость исследования.

Диссертация написана хорошим литературным языком, обладает внутренним единством, отражает все этапы проведенного исследования, содержит новые научные результаты и все необходимые доказательства научных положений и практических рекомендаций, выдвигаемых для публичной защиты. Вся работа выполнена на высоком методическом уровне и свидетельствует о значимом вкладе автора диссертационного исследования в развитие современной патофизиологии вирусных инфекций, в частности новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2.

Заключение

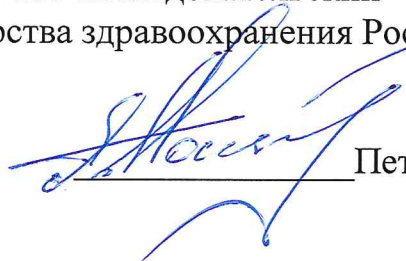
Таким образом, диссертационная работа Шкурникова Максима Юрьевича на тему «Роль генотипа главного комплекса гистосовместимости класса 1 и профиля микроРНК в патогенезе тяжелой и крайне тяжелой форм COVID-19», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований решена научная проблема – установлена роль генотипа главного комплекса гистосовместимости класса 1 и профиля микроРНК пациентов в патогенезе тяжелой и крайне тяжелой форм новой коронавирусной инфекции COVID-19 для оптимизации оценки тяжести и прогноза течения заболевания, имеющая важное социально-экономическое значение для России.

По актуальности решаемой проблемы, объему и глубине выполненных

исследований, качеству анализа полученных данных, доказательной научной и практической ценности выводов и практических рекомендаций диссертация полностью соответствует требованиям п.п. 9-14 "Положения о порядке присуждения ученых степеней" от 24.09.2013г. № 842 (ред. от 26 октября 2023 г.), утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор Шкурников Максим Юрьевич заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Официальный оппонент:

д.м.н., профессор, директор
Федерального государственного бюджетного учреждения "Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации


Петр Казимирович Яблонский

"21" декабря 2023 г.

Подпись доктора мед.наук, профессора П.К. Яблонского заверяю

Ученый секретарь федерального государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, канд. мед. наук, доцент


А.Н.Муравьев

"21" декабря 2023 г.

191036, г. Санкт-Петербург, Лиговский проспект, д.2-4, тел:+7(812)775-75-55, e-mail: info@spbniif.ru

