

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Ждановой Екатерины Васильевны на диссертацию Колесник С.В. на тему: «Патофизиологические особенности иммунного ответа у переболевших COVID-19 и формирование иммунитета у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. – Патологическая физиология (медицинские науки)

Актуальность избранной темы не вызывает сомнений. Работа посвящена изучению иммунопатогенеза новой коронавирусной инфекции COVID-19. С учетом пандемического распространения инфекции и внедрения массовой вакцинации населения, исследование иммунных реакций организма на инфицирование SARS-CoV-2 приобрело особую значимость. Доказательство ключевой роли SARS-CoV-2-специфичных Т-клеток в формировании долгосрочного иммунитета у переболевших COVID-19 и вакцинированных препаратом «Гам-КОВИД-Вак» создает целостность в понимании механизмов заболевания. Очевидно, что не достаточно оценивать только показатели гуморального иммунитета. Необходимо учитывать и второй существенный компонент иммунного ответа, а именно клеточный, как после перенесенной инфекции, так и после вакцинации. Стоит отметить, что в работе, выполненной автором, осуществлен комплексный подход к оценке иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2, включая как гуморальный, так и клеточный его компоненты, что позволило получить полноценные представления о патогенезе COVID-19 и делает эту диссертационную работу актуальной и клинически значимой.

Целью диссертационной работы явилось изучение патофизиологических особенностей иммунного ответа у переболевших COVID-19 и формирование иммунитета у вакцинированных «Гам-Ковид-Вак» путем оценки Т-клеточного и гуморального иммунитета методом ELISPOT и ИФА, а также путём экспериментального моделирования цитокинового ответа на разные белки SARS-CoV-2.

Для выполнения поставленной цели было сформулировано и решено 7 взаимосвязанных задач, свидетельствующих о последовательности в проведении исследований и их комплексности.

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

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, обеспечена использованием современных методик научного анализа. Степень обоснованности подтверждается комплексным подходом к изучению проблемы, использованием корректного дизайна исследования, научных методов, соответствующих международным требованиям.

Диссертационное исследование включало в себя три крупномасштабных этапа, а именно: два проспективных одномоментных обсервационных исследования с оценкой Т-клеточного ответа и содержания антител у переболевших, вакцинированных и лиц без инфекционного и вакцинального анамнеза COVID-19, а также экспериментальное моделирование цитокинового профиля у тех же групп пациентов. Результаты проведенной работы позволили автору сформулировать три положения, выносимых на защиту. Все научные положения раскрыты в главах собственных исследований автора, аргументированы, обоснованы, рекомендации логичны и последовательны, отражают цель и задачи исследования. Автором сформулировано 7 выводов. Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам и имеют как научное, так и практическое значение.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов.

Степень достоверности научных положений подтверждается использованием достаточной выборки и корректно выбранными методами статистической обработки материала, которые позволили автору сделать аргументированные заключения и корректные выводы.

Научная новизна заключается в том, что впервые проведено комплексное исследование особенностей Т-клеточного и В-клеточного иммунного ответа у переболевших COVID-19 и вакцинированных «Гам-Ковид-Вак» с использованием метода ELISPOT; впервые применен биоинформационный анализ полученных данных; впервые проведено экспериментальное моделирование цитокинового ответа на различные белки SARS-CoV-2 в среде культивирования МНПК.

Личный вклад автора.

Автору принадлежит ведущая роль в формулировке цели, задач и дизайна исследования. Лично автором проведен поиск и анализ литературы. Самостоятельно сформированы когорты пациентов, заполнены базы данных для аналитического обзора и систематизации данных, проведено определение уровня антител в

сыворотке крови, выполнен эксперимент, осуществлены исследования методом ELISPOT и проведена интерпретация полученных результатов. Лично автором написан текст диссертации, сформулированы выводы и практические рекомендации.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Научная и практическая значимость работы С.В. Колесник несомненны. Результаты исследования дают основание использовать их в практической деятельности. К достоинству следует отнести проведение комплексной оценки реакций гуморального и клеточного иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2 и в ответ на вакцинацию «Гам-КОВИД-Вак», а так же цитокинового профиля с дальнейшим проведением биоинформационного анализа для характеристики биологических объектов с использованием сразу всех измеряемых параметров.

Полученные выводы и рекомендации успешно внедрены в диагностическую работу лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, г. Москва; в практическую деятельность Центральной научно-исследовательской лаборатории Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Минобрнауки России, г. Симферополь; в диагностическую и исследовательскую деятельность ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, г. Казань. Базовые технологические решения и научные положения внедрены в научно-производственную деятельность АО «Генериум», г. Москва: результаты работы способствовали разработке тест-систем для оценки Т-клеточного ответа – ТиграТест in vitro на антигены к цитомегаловирусу и вирусу папилломы человека.

Соответствие диссертации паспорту специальности.

Все положения, выносимые на защиту, соответствуют паспорту специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки).

Полнота освещения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах из Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных.

Основные положения работы отражены в 7 публикациях, из которых 4 статьи в журналах, индексируемых в международных наукометрических базах Web of Science,

Scopus и в журналах перечня ВАК. 2 работы опубликованы в сборнике материалов международной конференции. Печатные работы, опубликованные по теме исследования, качественно и количественно отражают основные разделы исследования.

Оценка содержания и оформления работы.

Диссертация является завершенным исследованием, в котором решены все поставленные задачи. Структура диссертации традиционна: она состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, при этом описание обследуемого контингента вынесено в отдельную главу. Собственные исследования, включающие результаты обследования пациентов, экспериментального моделирования и биоинформационного анализа состояния иммунитета у переболевших COVID-19 и вакцинированных «ГАМ-КОВИД-ВАК» лиц представлены в трех главах. Полный анализ материала содержится в обсуждении и заключении, на основе чего сделаны выводы и практические рекомендации. Текст работы изложен на 142 страницах компьютерного текста, содержит 28 рисунков и 30 таблиц. Библиографический указатель включает 199 источников, среди которых 85% публикаций за последние 5 лет.

Во введении дана общая характеристика исследований, доказывается актуальность темы, ее новизна, сформулирована цель. Для достижения цели определены 7 задач, вытекающих из существа проблемы.

Обзор литературы представлен пятью частями. В трех разделах описаны современные представления о перестройках врожденного и приобретенного иммунитета при контакте с вирусом SARS-CoV-2 и вакцинации и особенностях иммунных реакций у переболевших и вакцинированных. В четвертом и пятом разделах описаны современные лабораторные методы оценки иммунного ответа и экспериментальные подходы к его исследованию *in vivo* и в моделях *in vitro*. В заключении литобзора автором сделан вывод о необходимости выполнения комплексного клинико-экспериментального исследования особенностей иммунного ответа у переболевших COVID-19 и вакцинированных «Гам-Ковид-Вак».

Вторая глава посвящена изложению материалов и методов исследования, статистической обработке данных. Для разрешения поставленных задач в рамках диссертационной работы проведено проспективное одномоментное обсервационное

исследование в 2 этапа (2020 и 2021 гг.). Оба этапа имели схожий дизайн, отличались датами, формированием выборки контрольной группы и, предположительно, патогенными штаммами вируса SARS-CoV-2. Иммунологический фрагмент исследования включал оценку Т-клеточного ответа методом ELISPOT и параметров гуморального ответа путем измерения уровня антител класса IgG к SARS-CoV-2 у переболевших COVID-19 и у вакцинированных Гам-КОВИД-Вак в разные периоды пандемии. Экспериментальный фрагмент исследования включал моделирование цитокинового ответа на различные белки SARS-CoV-2 в среде культивирования моноклеарных клеток периферической крови обследованных пациентов. Для анализа результатов применены современные статистические методы обработки данных, в том числе биоинформационный с кластеризацией субъектов. Количество исследований и выбранные методы статистической обработки достаточны для аргументированного заключения и выводов.

Таким образом, для решения поставленных задач использован комплекс адекватных и современных иммунологических методов исследования при достаточном количестве наблюдений. Содержание этой главы свидетельствует о хорошем научно-методическом уровне проведенной работы, а статистическая обработка полученных данных с использованием различных методов математического анализа подтверждает достоверность сделанных заключений и выводов.

Третья глава описывает проведенный детальный расчет минимального объема выборки и первичную, вторичную и конечные точки исследования.

В этой же главе описаны демографические и клинико-anamnestические данные участников проспективного одномоментного обсервационного исследования обоих этапов, по отдельности.

В четвертой главе автором выполнен анализ результатов исследований иммунного ответа у переболевших COVID-19 и у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак». Глава иллюстрирована 12 таблицами и 6 рисунками, что позволяет наглядно оценить выявленные особенности клеточной и гуморальной составляющих иммунного ответа.

Пятая глава посвящена сопоставлению показателей клеточного и

гуморального иммунного ответа у реконвалесцентов COVID-19 и у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак» в разные периоды пандемии, с применением корреляционного и регрессионного анализов. Проведенный сравнительный анализ выявил как общие черты, так и различия противовирусного иммунитета у двух групп пациентов между собой и внутри каждой группы, а также в разные годы исследований.

В шестой главе описаны полученные результаты, которые подтвердили гипотезу о существовании защитных механизмов, обеспечивающих сбалансированный иммунный ответ. Данные получены в результате проведенного экспериментального моделирования цитокинового ответа на белки SARS-CoV-2 *in vitro* при стимуляции ими МНПК в среде культивирования у реконвалесцентов COVID-19, вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак» и в контрольной группе.

Седьмая глава посвящена описанию результатов проведенного биоинформационного анализа показателей клеточного и гуморального иммунитета и цитокинового профиля у трех групп пациентов: переболевших COVID-19, у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак» и в контрольной группе с кластеризацией субъектов и их показателей, что в свою очередь еще раз подтвердило рекомбинантный механизм появления специфичности Т- и В- клеток при COVID-19.

В главе «Заключение» завершен анализ материалов. Автор обобщает полученные материалы и делает выводы, которые соответствуют поставленной цели и задачам и логично отражают полученные результаты. Диссертация заканчивается 3-мя практическими рекомендациями.

На основании результатов собственных исследований выявлены закономерности формирования клеточного и гуморального противовирусного иммунитета, а также особенности его при инфицировании и вакцинировании «Гам-КОВИД-Вак». Презентация всех антигенов полноценным вирусом SARS-CoV-2 при заболевании определяет более высокую эффективность и длительность клеточного и гуморального иммунитета, тогда как при вакцинации сенсibilизация формируется только к антигенам S белка векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак». Результаты моделирования цитокинового ответа на белки SARS-Cov-2 в эксперименте доказывают существование защитно-приспособительных механизмов иммунитета, способствующих развитию нормэргических реакций, и в то же время не исключает возможность дизергии, что подтверждается биоинформационным анализом

показателей клеточного и гуморального иммунитета и цитокинового профиля у переболевших и вакцинированных.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации.

Автореферат соответствует тексту диссертации, отражает основные положения диссертационной работы, соответствует требованиям ВАК.

Обобщая изложенное, следует подчеркнуть, что исследования выяснили поставленную цель; адекватно спланированные подходы позволили дать ответ на сформулированные задачи, что представлено в выводах и практических рекомендациях.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Принципиальных замечаний по диссертации С.В. Колесник нет. Обращает на себя внимание тщательность описания полученных результатов и их подробный анализ. Положительно оценивая диссертационную работу, хотелось бы задать вопросы в плане обсуждения:

1. Вы сравнили ответ Т-лимфоцитов на специфическую стимуляцию двумя наборами пептидных антигенов (AG1 и AG2) в 2020 и 2021 годах. Как Вы объясняете, что степень реакции клеток на обе панели была выше во всех категориях обследованных в 2020 году, чем в 2021?

2. Почему при возрастании частоты выявления и степени гуморального иммунитета у пациентов в 2021 году положительные заключения о Т-клеточном ответе на антигены были более редкими, чем в предыдущем исследовании?

Заданные вопросы носят дискуссионный и уточняющий характер, не приводят к снижению качества исследования и не влияют на основные теоретические и практические результаты диссертационного исследования.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным

п. п. 9 Положения о присуждении ученых степеней.

Таким образом, диссертация Колесник Светланы Владимировны на тему: «Патофизиологические особенности иммунного ответа у переболевших COVID-19 и формирование иммунитета у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак», представленная

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи о закономерностях формирования противовирусных иммунных реакций и их особенностях при инфицировании и вакцинировании. По актуальности, степени научной новизны, практической значимости, достоверности полученных результатов, обоснованности научных положений и выводов, научно-методическому уровню и совокупности научных результатов представленная работа полностью соответствует требованиям п.9 (абзац 2) «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. с изменениями, внесенными постановлением Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор - Колесник Светлана Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3 – патологическая физиология.

Официальный оппонент,

доктор медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология,
профессор кафедры патологической физиологии

ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет»

Минздрава России

«14» 05 2025 г.



Жданова Е.В.

Наименование организации: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России

625023, город Тюмень ул. Одесская д. 54

Тел.: +7 (3452) 69-07-00. Адрес электронной почты: tgmu@tyumsmu.ru

Подпись Ждановой Е.В. заверяю:

Ученый секретарь совета

ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России



Платицына С.В.