

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации Цыбикова Намжила Нанзатовича на диссертацию Колесник Светланы Владимировны 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 темы диссертационной работы.

В январе 2020 года Всемирная организация здравоохранения объявила вспышку заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения международного значения, а в марте того же года — пандемией. Спустя три года, 5 мая 2023 года, генеральный директор ВОЗ заявил об отмене статуса пандемии для COVID-19. Таким образом, по данным на январь 2025 года, в мире зарегистрировано более 777 миллионов случаев заболевания, из которых свыше 7 миллионов закончились летальным исходом. Эти цифры делают пандемию COVID-19 одной из самых разрушительных в истории человечества. Современная наука свидетельствовала эволюцию вируса SARS-CoV-2 от «генетической последовательности ноль» (WIV04/2019) до варианта Омикрон (B.1.1.529), который сегодня сохраняет свое доминирование в мире. Исследования вируса SARS-CoV-2 и вызываемой им новой коронавирусной инфекции COVID-19, проведенные в разных странах мира, позволили установить наиболее уязвимые для этой инфекции группы населения, изучить течение и варианты исхода, разработать методы диагностики, лечения, профилактики и реабилитации. Накопленные научные данные и опыт взаимодействия с постоянно меняющимся генотипом SARS-CoV-2 фиксируют смену парадигмы лабораторной диагностики инфекции, а именно переход к совокупному анализу данных прямой детекции РНК возбудителя и результатов непрямых методов оценки адаптивных реакций иммунной системы человека на контакт с антигенами. В комплексной оценке адаптивного иммунитета при COVID-19 интерес представляет изучение его гуморальной и клеточной составляющих. Фокус в диагностике ответа SARS-CoV-2-специфичных антител изменялся с качественной оценки суммарных иммуноглобулинов классов А, М, G на количественное определение

нейтрализующих антител IgG к рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка SARS-CoV-2. С накоплением данных об особенностях гуморального звена стало понятным, что для целостного понимания иммунных реакций необходимо оценивать иммунный ответ антиген-специфичных Т-клеток. Методом детекции антиген-специфичных Т-клеток, сочетающим научную обоснованность, точность и доступность, представляется IGRA-ELISPOT (Interferon Gamma Release Assay, Enzyme-Linked Spot Analysis). Диагностическая платформа IGRA-ELISPOT основана на детекции Т-клеток, секретирующих интерферон гамма (IFN- γ) в ответ на стимуляцию антигенами возбудителя. Применительно к исследованию SARS-CoV-2-специфического иммунного ответа значительным преимуществом метода является возможность выбора для сенсibilизации наиболее консервативных белков, т. е. белков, гены которых наименее подвержены мутациям. В этой связи метод остается валиден в отношении ответов Т-клеток, индуцированных вариантами SARS-CoV-2, включая Omicron. Выраженный гуморальный иммунный ответ, индуцированный вакциной Гам-КОВИД-Вак, неоднократно описан в достоверных источниках, в то время как Гам-КОВИД-Вак-ассоциированный Т-клеточный ответ остается в фокусе научного интереса. Таким образом, актуальность работы не вызывает сомнений.

Цель исследования сформулирована автором, как изучение патофизиологических особенностей иммунного ответа у переболевших COVID-19 и формирования 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 задачи, свидетельствующих о последовательности в проведении исследований и его комплексности.

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

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, обеспечена комплексным подходом к изучению проблемы, использованием корректного дизайна исследования, научных методов и достаточной выборки, соответствующей международным требованиям. Результаты проведенного исследования позволили автору сформулировать три положения, выносимых на защиту. Все положения раскрыты в главах собственных исследований автора.

В соответствии с поставленной целью и задачами автором выполнена клинико-экспериментальная работа, проведено проспективное одномоментное обсервационное исследование в два этапа работы с оценкой Т-клеточного ответа и содержания антител у переболевших, вакцинированных и лиц без инфекционного и вакцинального анамнеза COVID-19. Для оценки иммунитета у указанных лиц применены лабораторные методы исследования образцов венозной крови. Эксперимент определения цитокинов проведен в среде культивирования МНПК при специфической и неспецифической стимуляции антигенами SARS-CoV-2 у тех же категорий обследуемых. Материалом были образцы культуральной среды МНПК, полученные при оценке Т-клеточного ответа. Все научные положения и выводы, представленные в диссертации, аргументированы и имеют как научное, так и практическое значение.

Личный вклад автора

Автор самостоятельно предложила направление темы работы, совместно с руководителем разработала дизайн и экспериментальную модель. Автор самостоятельно сделала аналитический обзор, разработала анкету и выполнила сбор анамнеза и систематизацию данных, определяла антитела в сыворотке крови, провела эксперимент, постановку ELISPOT и анализ результатов. Автором лично написаны главы диссертации, совместно с руководителем сформулированы заключительные положения, выводы, практические рекомендации.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов.

Достоверность результатов исследования подтверждается корректным применением выбранного математического аппарата. Материал, обработанный диссертантом, дает возможность сделать статистически достоверные выводы.

Научная новизна исследования состоит в том, что автором впервые проведено комплексное исследование патофизиологических особенностей Т-клеточного иммунного ответа у переболевших COVID-19 и формирования иммунитета у вакцинированных «Гам-Ковид-Вак» при помощи: оценки Т-клеточного иммунного ответа методом ELISPOT и гуморального иммунного ответа путем определения уровня антител к SARS-CoV-2 с впервые примененным биоинформационным анализом полученных данных; впервые проведенного экспериментального моделирования цитокинового ответа на различные белки SARS-CoV-2 в среде культивирования МНПК; оценки площади пятен (спотов) впервые при работе методом ELISPOT.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Научная и практическая значимость работы С.В. Колесник несомненны. Практическая значимость работы заключается в проведении комплексной оценки патофизиологических особенностей гуморального и клеточного иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2 и в ответ на вакцинацию «Гам-КОВИД-Вак», что в свою очередь может быть применимо для критериев степени тяжести заболевания, прогноза и определения дальнейшей тактики ведения пациентов, патогенетической терапии, а также для оценки эффективности вакцинации и отражения биологической правильности аденовирусной векторной вакцины «Гам-КОВИД-Вак». Оценка активности Т-клеточного звена иммунной системы проведена наиболее специфичным методом ELISPOT с использованием пептидов разных белков вируса, который можно использовать при любых других вирусных заболеваниях.

Диссертационное исследование представляет собой несомненный научный интерес. Полученные данные привлекают внимание к проблеме рекомбинантного механизма появления в организме специфических распознающих антиген молекулярных структур наивных Т- и В-лимфоцитов иммунного ответа при COVID-19, что приводит к разной силе клеточного и гуморального противовирусного иммунитета, возникающего после инфицирования вирусом SARS-CoV-2 или вакцинации «Гам-КОВИД-Вак». Большого внимания заслуживает проведенный биоинформационный анализ полученных данных.

Полученные выводы и рекомендации могут активно использоваться в клинической и педагогической практике и могут служить руководством в практической деятельности при организации медицинских мероприятий в противодействии инфекционным заболеваниям, вызываемым SARS-CoV-2 и другими респираторными вирусами.

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.

По теме диссертации автором опубликованы 7 научных работ. Из них 4 статьи в журналах, индексируемых в международных наукометрических базах Web of Science, Scopus; 3 из них опубликованы в журналах перечня ВАК по специальности защищаемой работы, 1 – в международном журнале. 2 работы

опубликованы в сборнике материалов международной конференции. 1 статья опубликована в журнале, рекомендованном ВАК не по шифру специальности. 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. Работа изложена на 142 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, пяти глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы (19 отечественных и 180 зарубежных источников). Диссертация иллюстрирована 30 таблицами и 28 рисунками.

Во **Введении** полно раскрыта актуальность, сформулирована цель и задачи исследования, представлена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Обзор литературы отражает знание автором литературы по изучаемым вопросам, соответствует теме диссертации, достаточный по объему. Глава состоит из пяти разделов, последовательно рассмотрено современное состояние исследований врожденного и приобретенного иммунитета при контакте с вирусом SARS-CoV-2 и вакцинации с подробной характеристикой особенностей иммунного ответа у переболевших COVID-19 и у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак», подробно дан анализ литературным данным, посвященным современному экспериментальному подходу к исследованию иммунного ответа в моделях *in vivo* и *in vitro*, а также современным лабораторным методам оценки клеточного и гуморального иммунного ответа, их возможностям и ограничениям. Автор подводит к пониманию недостаточности разработанности проблемы и несомненной актуальности предпринятого исследования.

Вторая глава традиционно посвящена изложению материалов и методов исследования, статистической обработке данных. В главе подробно дана характеристика материала, лабораторных методов исследования, экспериментального моделирования, статистической обработки данных и отображены этические критерии исследования. Количество исследований и выбранные методы статистической обработки достаточны для аргументированного заключения и выводов.

В третьей главе проведен детальный расчет минимального объема выборки и

описаны первичная и вторичная конечные точки исследования.

Автором проанализированы демографические и клинико-анамнестические данные участников проспективных одномоментных обсервационных исследований, проведенных в 2020 и в 2021 гг.

В четвертой главе автором выполнен анализ результатов проведенных исследований иммунного ответа у переболевших COVID-19 и у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак» с описанием выявленных особенностей клеточной и гуморальной его составляющих.

В пятой главе проведено сопоставление показателей клеточного и гуморального иммунного ответа у реконвалесцентов COVID-19 и у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак» в разные периоды пандемии. Проведенное сопоставление выявило общие черты и различия противовирусного иммунитета у двух групп пациентов между собой и внутри каждой группы в 2020 и 2021 гг. по отдельности, что нашло свое подтверждение в результатах корреляционного и регрессионного анализов.

В шестой главе описаны результаты экспериментального моделирования цитокинового ответа на белки SARS-CoV-2 *in vitro* при стимуляции ими МНПК в среде культивирования у трех групп пациентов: реконвалесцентов COVID-19, вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак» и в контрольной группе. Полученные данные подтвердили гипотезу о том, что существуют патофизиологические механизмы, которые могут предотвратить «цитокиновый шторм».

В седьмой главе автор описал результаты проведенного биоинформационного анализа показателей клеточного и гуморального иммунитета и цитокинового профиля у переболевших COVID-19 и у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак» с кластеризацией субъектов и показателей субъектов. Данный анализ был проведен для возможности оценить биологические объекты с использованием сразу всех измеряемых параметров. Что в свою очередь еще раз подтвердило механизм появления специфичности Т- и В- клеток, который приводит к формированию широкого репертуара клеточных и гуморальных иммунных реакций.

Заключение логично подводит итог проведенного исследования, представляет собой систематизированное краткое изложение и анализ полученных результатов. Диссертация заканчивается 7-ю выводами и 3-мя практическими рекомендациями, которые вытекают из ее содержания.

По структуре, объему, оформлению и изложению материала диссертация полностью соответствует требованиям ВАК.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и

выводам диссертации.

Автореферат диссертации полностью отражают основные положения работы.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Материал диссертации изложен логично и аргументировано. Все ее разделы подчинены единой поставленной цели. Оформление текста и графического материала выполнено в соответствии с требованиями, предъявляемыми к диссертационным работам. К достоинству работы следует отнести использование высокочувствительного и специфичного метода ELISPOT для оценки клеточного иммунного ответа. Результатом его использования является более точная оценка временных характеристик сохранения уровня детекции Т-клеточного иммунного ответа после перенесенного заболевания COVID-19 и после вакцинации «Гам-КОВИД-Вак» с возможностью исключения излишней вакцинации при наличии такового.

Принципиальных замечаний по диссертации и автореферату нет. Есть два вопроса, требующих пояснения от диссертанта, которые носят дискуссионный характер и не влияют на качество и результаты диссертационного исследования:

1. Лимфопения при ковиде сопровождается иммуносупрессией. Однако при этом регистрируется цитокиновый «шторм», свидетельствующий о гипериммунном ответе. Как объяснить это противоречие?
2. В главе «Новизна...» Вы указываете, что Т-лимфоциты способны утилизировать цитокины. Каким образом?

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным п. п. 9 Положения о присуждении ученых степеней.

Таким образом, диссертационная работа Колесник Светланы Владимировны на тему: «Патофизиологические особенности иммунного ответа у переболевших COVID-19 и формирование иммунитета у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак»», представленная на соискание степени кандидата медицинских наук является научно-квалификационной работой, в которой содержатся решения задач, решение которых позволило внести весомый вклад в совокупность научных представлений о патогенезе COVID-19, имеющих существенное значение для практического применения в иммунологии и терапии инфекционных заболеваний.

По актуальности темы, научной новизне и практической значимости, достоверности полученных результатов, обоснованности научных положений и

выводов и научно-методическому уровню, диссертационная работа Колесник Светланы Владимировны «Патофизиологические особенности иммунного ответа у переболевших COVID-19 и формирование иммунитета у вакцинированных «Гам-КОВИД-Вак»» полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842), в редакции Постановления правительства РФ от 21.04.2016. № 335, предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Колесник Светлана Владимировна заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. - патологическая физиология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой патологической физиологии
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Читинская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук (14.00.29 - Гематология и
переливание крови), профессор



Цыбиков Намжил Нанзатович

«27» мая 2025 г.

*Подпись Цыбикова Н.Н.
заведующего
кадров проф. Е.А. Зубов
27.05.2025*



Наименование организации: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации 672000, Забайкальский край, г. Чита, ул. Горького, д.39А
Тел.: +7 (3022) 35-43-24 Адрес электронной почты: pochta@chitgma.ru