

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Калюжина Олега Витальевича на диссертационную работу Иванова Михаила Федоровича «Иммунопатогенез и иммунодиагностика геморрагической лихорадки с почечным синдромом», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология

Актуальность темы исследования

Сегодня известно более восьмидесяти отличающихся друг от друга видов ортохантавирусов, к числу которых принадлежат возбудители геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС). В Российской Федерации, в том числе и в Самарской области, где было выполнено диссертационное исследование, лидирующее положение по количеству случаев занимает вид Puumala.

ГЛПС – зоонозная природноочаговая инфекция. Ее источником у человека чаще всего служат грызуны, от которых человек заражается аэрогенным или контактным путем. При этом от человека к человеку ортохантавирусы не передаются.

Актуальность проблемы ГЛПС у человека связана с преимущественным поражением людей молодого и среднего (то есть трудоспособного) возраста, протеканием заболевания с развитием острого системного воспаления, геморрагического синдрома, избирательным поражением почек при относительно высокой частоте тяжелого течения заболевания, возможностью летального исхода и продолжительностью резидуальных явлений в виде многолетних нарушений почечных функций. Недаром возбудители этого заболевания относятся к категории биологического оружия.

Есть и другие проблемы. Дело в том, что клинические проявления ГЛПС начинаются с общетоксического синдрома, а патогномоничная симптоматика развивается только ко второй неделе заболевания. При этом вирус поражает в организме человека и эндотелиальные, и эпителиальные клетки, и клетки врожденного иммунитета, не вызывая цитопатического эффекта, но модулируя их функции. Длительность внутриклеточного выживания этих вирусов, несмотря на высокую интенсивность репликации, создает проблемы для их раннего обнаружения методом ПЦР, в связи с чем основным способом

верификации диагноза ГЛПС является серодиагностика, то есть не раньше 5-го дня болезни. Более того, к настоящему времени не разработаны надежные методы противовирусной терапии ГЛПС. Что касается профилактики этого заболевания, то вакцины существуют, но, по признанию инфекционистов, их эффективность пока невелика.

С указанных точек зрения иммунологический подход диссертанта к решению актуальных проблем ГЛПС вполне оправдан.

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

Диссертация выполнена с применением современных и адекватных методов исследования, позволяющих не только оценить рутинные клинико-лабораторные признаки заболевания, но и выявить у больных ГЛПС ранее не изученные иммунофенотипические свойства лимфоцитов в сочетании цитокиновым профилем крови. Следует признать рациональным распределение включенных в исследование субъектов (всего 161 человек) во вполне репрезентативные выборки: основную группу пациентов с ГЛПС, двух групп сравнения (больных ОРВИ и условно здоровых лиц), двух групп контроля эффективности вновь разработанных критериев ранней диагностики и тяжести течения ГЛПС.

Достоверность и новизна полученных результатов

Высокая степень достоверности результатов работы подтверждается адекватной статистической обработкой полученных данных с использованием разнообразных методов современной статистики. Результаты, полученные в диссертации, прошли апробацию на различных конференциях, конгрессах и съездах разного уровня, в том числе с международным участием.

Научная новизна диссертационного исследования Иванова М.Ф. не вызывает сомнений. В результате проведенной работы был установлен целый ряд не описанных ранее особенностей иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом и предложены новые показатели ранней диагностики и прогнозирования тяжести течения болезни. Полученные результаты позволили Иванову М.Ф. предложить новые схемы иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом, вызванной ортохантавирусом *Ришмала*, в разные периоды болезни.

Было показано, что с самого начала заболевания развитие иммунного ответа является контролируемым со стороны регуляторных Т-клеток,

количество которых в крови больных возрастает уже в первые дни болезни и предположительно ограничивает интенсивность системного воспаления в кровотоке и развитие «цитокинового шторма». Основываясь на выделении среди Трег $CD4^+$ и $CD8^+$ субпопуляций и используя данные литературы последних лет, диссертант показал, что такой подход позволяет также оценить вклад этих клеток в механизмы формирования иммунологической памяти.

Кроме того, диссертант установил, что ключевым механизмом, определяющим особенности иммунопатогенеза ГЛПС, является активация цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) с участием рецепторов активации NKG2D, что до настоящего времени при вирусных инфекциях детально не изучалось. В то же время, поскольку ортохантавирусы не обладают цитопатическим эффектом, цитотоксический ответ Т-лимфоцитов не только на презентируемые клеточной мишенью вирусные антигены, распознаваемые с участием специфического рецептора (TCR), но и на стресс-индуцированные молекулы (MICA, MICB), экспрессируемые инфицированными клетками, с участием NKG2D значительно расширяет возможности ЦТЛ по элиминации вируса.

Показано также, что число $NKG2D^+$ ЦТЛ коррелирует с уровнем ИЛ-15 – цитокином, регулирующим раннюю трансформацию этих клеток в $CD8^+$ лимфоциты памяти. При этом поддержку эффекторного звена иммунного ответа в дальнейшем развитии иммунного ответа могут осуществлять $CD3^+CD56^+CD8^+$ НКТ, обладающие одновременно цитотоксической и иммуносупрессорной активностью, число которых достоверно возрастает в разгар заболевания.

Личный вклад Иванова М.Ф. состоит в участии на всех этапах выполнения диссертационного исследования, а также в подготовке публикаций по теме диссертации.

Значимость для науки и практики результатов диссертационного исследования

Результаты, полученные в ходе работы, существенно расширяют современный уровень знаний об иммунопатогенезе инфекционных заболеваний и, в частности, геморрагической лихорадки с почечным синдромом, и могут стать теоретической основой для новых исследований.

Расшифрован неизвестный ранее иммунопатогенетический механизм, присущий ГЛПС, построены рабочие гипотезы и обобщены в виде схем

иммунопатогенеза ГЛПС в каждый клинический период. Доказано, что ведущей особенностью развития иммунопатогенеза при ГЛПС является уникальное сочетание реакций врожденного и адаптивного иммунного ответа.

Для клинической практики в процессе проведения исследований Ивановым М.Ф. разработаны новые клинически значимые критерии: прогностический критерий тяжелого течения (ПКТТ), дающий возможность прогнозировать тяжелое течение ГЛПС в первые дни заболевания, а также ранний неспецифический интегральный показатель (РНИП), позволяющий диагностировать болезнь до развития диагностически значимой сероконверсии.

Публикации

По материалам диссертации опубликована 31 печатная работа, из них 8 индексированы в международных системах цитирования Scopus и Web of Science, 20 публикаций в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, из них 13 статей по специальности 3.2.7. Иммунология. По материалам диссертации получен патент России на изобретение «Способ прогнозирования тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом на ранних этапах заболевания» № 2790962 от 28.02.2023 г. и свидетельство № 2023662769 о регистрации программы для ЭВМ «Калькулятор ранней лабораторной диагностики и прогнозирования тяжелого течения ГЛПС».

Оценка содержания работы

Диссертация изложена на 316 страницах машинописного текста, состоит из введения, литературного обзора, главы с описанием материалов и методов исследования, трех глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, который содержит 428 источников, из которых 62 отечественных и 366 зарубежных. Иллюстрирована работа 76 рисунками и 26 таблицами. Диссертация грамотно оформлена и написана доступным языком.

В разделе «Введение» обоснован выбор темы исследования, четко сформулированы цель, задачи, актуальность работы, ее научная новизна, практическая значимость и основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы автором всесторонне и основательно анализируются известные данные по иммунопатогенезу ГЛПС, большой литературный материал позволил в полной мере оценить современное состояние вопроса и

грамотно сформулировать актуальность, задачи и цели исследования.

В главе «Материалы и методы исследования», дана исчерпывающая характеристика объектов исследования. Продуманный дизайн исследования адекватен поставленной цели и задачам. В работе использованы и описаны клинические, лабораторные, иммунологические методы исследования. Использованы корректные методы статистической обработки полученных данных, которые в итоге позволили получить достоверные результаты.

В главах 3, 4 и 5, автором изложены результаты проведенных исследований, а также проводится их обсуждение.

Дана клинико-лабораторная характеристика и дифференциальная диагностика ГЛПС в начальном периоде заболевания. Впервые описаны феномены увеличения количества в крови больных NKG2D – активированных цитотоксических Т-лимфоцитов и субпопуляций Т-регуляторных клеток. Дана характеристика ГЛПС в начальный период при разной степени тяжести течения у больных, с учетом цитокинового обеспечения иммунопатогенетического процесса. Выявлены и показаны особенности иммунопатогенеза ГЛПС в олигоурический и полиурический периоды, то есть в разгар инфекционного процесса. Автор убедительно доказывает, что системные иммунопатогенетические реакции в организме с самого начала инфекционного процесса подвергаются иммуносупрессорному контролю со стороны регуляторных клеток. Активация эффекторных лимфоцитов происходит не только классическим путем через TCR рецепторы, но и NKG2D зависимым механизмом, который преобладает при данном заболевании, в результате элиминация возбудителя происходит с помощью врожденных и адаптивных реакций иммунитета.

На основании полученных данных Иванов М.Ф., используя регрессионный анализ, предлагает и доказывает, что с помощью вновь разработанного им раннего неспецифического интегрального показателя, с высокой степенью достоверности можно диагностировать ГЛПС на начальных этапах заболевания. Также автор предлагает и показывает эффективность использования в клинической практике вновь полученного прогностического критерия тяжелого течения ГЛПС в начальный период заболевания.

В исследовании Иванова М.Ф. показаны так же особенности изменений цитокинового профиля больных ГЛПС в зависимости от периода патологического процесса. Показана патогенетическая значимость и

взаимосвязь с популяционным составом иммунных клеток про- и противовоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF α , TNF β , IL-10, IL-15, IL-12, IFN γ .

В главе «Заключение» автор обобщает полученные данные.

Выводы логичны, вытекают из полученных результатов, соответствуют поставленным цели и задачам исследования.

Практические рекомендации позволяют оптимизировать раннюю диагностику ГЛПС и дать прогноз о развитии тяжелого течения заболевания в первые дни болезни и могут иметь важное значение для здравоохранения.

Автореферат полностью отражает материалы диссертационной работы.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационной работы нет. В диссертации присутствует ряд опечаток и мелких неточностей, которые не умаляют значения работы.

Для дискуссии предлагаются следующие **вопросы**:

1. Как бы Вы объяснили механизм низкой чувствительности ПЦР для обнаружения вирусного возбудителя в начальный период ГЛПС?

2. В работе указывается на возможность использования в качестве лечебной процедуры при значительных нарушениях почечных функций гемодиализа. Сказалось ли это на полученных Вами иммунологических данных?

Заключение

Диссертационная работа Иванова Михаила Федоровича «Иммунопатогенез и иммунодиагностика геморрагической лихорадки с почечным синдромом», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология, является законченным научно-квалификационным трудом на актуальную тему, в котором содержится решение научной проблемы, имеющей существенное значение как для развития иммунологии, так и для практического здравоохранения: раскрыты новые аспекты формирования иммунного ответа при геморрагической лихорадке с почечным синдромом, и предложена новая гипотеза иммунопатогенеза этого заболевания, что создает фундамент для внедрения в клиническую практику новых приемов ранней диагностики и прогнозирования тяжести течения ГЛПС с использованием иммунологических критериев.

Таким образом, работа полностью соответствует требованиям раздела II Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изм. и доп. от 21 апреля, 2 августа 2016 г., 29 мая, 28 августа 2017 г., 1 октября 2018 г., 20 марта, 11 сентября 2021 г., 26 сентября 2022 г., 26 января, 26 октября 2023 г., 25 января 2024 г., 16 октября 2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор – Иванов Михаил Федорович – заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук (14.00.36 – Аллергология и иммунология; по действующей номенклатуре – 3.2.7. Иммунология),

профессор, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института

клинической медицины им. Н.В. Склифосовского

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Минздрава России

(Сеченовский университет)



Калюжин Олег Витальевич

25.02.2025



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)). Адрес: 119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел. 8(499)248-53-83, E-mail: rectorat@staff.sechenov.ru, <https://www.sechenov.ru>

Отзыв официального оппонента Калюжина О.В. поступил «3» марта 2025 года

Ученый секретарь Совета 24.1.063.01, к.б.н.



Ю.А. Журавлева

С отзывом официального оппонента Калюжина О.В. ознакомлен «03» МАРТА 2025 года

Соискатель



М.Ф. Иванов