

ОТЗЫВ

официального оппонента, заведующий отделом фундаментальной пульмонологии ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России, доктора медицинских наук, профессора Черняева Андрея Львовича на диссертацию Одилова Акмалжона Адхамжоновича «ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ, ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕГКИХ ПРИ COVID-19», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2. – Патологическая анатомия

Актуальность избранной темы диссертационного исследования

Продолжающаяся пандемия коронавирусной болезни 2019 года (COVID-19), вызванной новым коронавирусом SARS-CoV-2, превратилась в один из самых серьезных кризисов общественного здравоохранения за последние несколько десятилетий. Несмотря на выраженные респираторные проявления, на сегодняшний день уже известно, что COVID-19 представляет собой системное заболевание, характеризующееся широким спектром мультиорганных проявлений. Механизмы, лежащие в основе мультиорганных поражений обусловлены, обусловлены прямым цитопатическим воздействием коронавируса SARS-CoV-2 на ткани жизненно важных органов и сочетанием дисрегуляции иммунного ответа с избыточностью воспалительной реакции и различными коагулопатиями.

С самых первых дней пандемии одной из основных задач, стоящими перед исследователями, было доказательство вирус-ассоциированности повреждений тканей жизненно важных органов путем выявления РНК или белка SARS-CoV-2 в различных биологических образцах пациентов с COVID-19, в том числе тканях. Опубликован ряд работ, посвященных молекулярно-генетической детекции коронавируса SARS-CoV-2. Однако, большинство из них ограничены лишь качественным выявлением РНК коронавируса, то есть выявлением наличия или отсутствия вируса, без количественной оценки уровня вирусной нагрузки. При этом материалом для исследования во многих работах выступают мазки, смывы, биологические жидкости, но не ткани жизненно важных органов.

Согласно данным литературы, уровень вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в мазках из носо- и ротоглотки может служить в качестве прогностического маркера тяжести течения COVID-19. Тем не менее, исследования, содержащие результаты измерения уровня вирусной нагрузки в первичном очаге, самой легочной ткани, с использованием адекватных методов практически отсутствуют. Более того, остаются недостаточно хорошо

изученными зависимость характера гистопатологических изменений в легких и масштабов внелегочной диссеминации коронавируса от уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2.

В этой связи актуальность избранной темы диссертационного исследования Одилова Акмалжона Адхамжоновича не вызывает никаких сомнений.

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

Достоверность и обоснованность научных положений и выводов, содержащихся в диссертации, определяются достаточным объемом и репрезентативностью выборки, комплексным исследованием ткани легких и других жизненно важных органов как классическим гистологическим методом, так и современными молекулярно-генетическим, иммуногистохимическим и электронно-микроскопическим методом. Полученные результаты были подвергнуты адекватной и необходимой статистической обработке. Количественная оценка уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в тканях различных органов была осуществлена с применением разработанных Одиловым А.А. и соавторами оригинального запатентованного набора олигонуклеотидов и способа количественной оценки. Штаммовая принадлежность коронавируса SARS-CoV-2 в тканях была определена методом прямого секвенирования по Сэнгеру. При иммуногистохимическом исследовании были использованы первичные моноклональные антитела против S-белка SARS-CoV-2, высокая специфичность и авидность которых была неоднократно подтверждена рядом авторов. Электронно-микроскопические исследования проводились на электронном микроскопе JEM 1400 (JEOL, Япония). Результаты диссертационной работы иллюстрированы рисунками отличного качества, представлены в таблицах, что облегчает восприятие материала. Материалы исследования неоднократно доложены на конференциях различного уровня. Основные положения диссертации отражены в 4 опубликованных печатных работах, в журналах входящих в МБД Scopus и WoS, и в 1 работе, опубликованной в журналах из перечня РУДН.

Цель исследования, выводы и практические рекомендации ясно и четко сформулированы, содержат новые научные результаты и положения, выносимые на защиту, логично вытекают из результатов собственных исследований, научно аргументированы, полностью отражают содержание диссертации.

Новизна полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы не вызывает сомнений. Автором впервые был разработан оригинальный набор олигонуклеотидов и способ количественной оценки уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в тканях различных органов, с помощью которого впервые были получены количественные значения уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в легких и прикорневых лимфатических узлах, сердце, печени, почках, селезенке и головном мозге пациентов, умерших с COVID-19; установлена сильная прямая корреляционная связь между уровнем вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в легких и характером гистопатологических изменений в легких пациентов с COVID-19 - более высокие значения вирусной нагрузки SARS-CoV-2 были характерны для экссудативной фазы диффузного альвеолярного повреждения в легких; было показано, что экссудативная фаза диффузного альвеолярного повреждения и высокий уровень вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в легких определяют масштаб мультиорганной диссеминации коронавируса SARS-CoV-2; методом трансмиссионной электронной микроскопии были представлены доказательства возможности прямого инфицирования лимфоцитов коронавирусом SARS-CoV-2.

Теоретическая и практическая значимость результатов

Результаты диссертационного исследования Одилова А.А. уточняют и углубляют имеющиеся сведения о патологической анатомии легких при COVID-19. Разработанный способ молекулярно-генетического исследования SARS-CoV-2 в тканях различных органов значительно расширяет диагностический арсенал лабораторий, позволяя не только детектировать РНК SARS-CoV-2, но и с высокой точностью измерить уровень вирусной нагрузки. Значение уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 и фаза диффузного альвеолярного повреждения могут быть использованы в прогностическом маркера масштаба мультиорганной диссеминации коронавируса. Результаты иммуногистохимического исследования существенно дополняют имеющиеся данные о клеточном и тканевом тропизме коронавируса SARS-CoV-2. Обнаружение коронавирусных частиц в цитоплазме эндотелиальных клеток в различных органах методом трансмиссионной электронной микроскопии подтверждает важное значение эндотелиальных дисфункций в патогенезе COVID-19-ассоциированных коагулопатий и тромбозов. Обнаруженные в цитоплазме лимфоцита коронавирусные частицы являются доказательством возможности инфицирования и SARS-CoV-2 опосредованной смерти иммунных клеток, что может пролить свет на патогенез лимфопений при COVID-19.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.3.2. – Патологическая анатомия.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

По теме диссертационной работы опубликовано 10 работ, в том числе 1 статья в издании из Перечня, рекомендованного Ученым советом РУДН, 4 публикации в журналах, индексируемых в МЦБ WoS и Scopus, 1 патент на изобретение (RU 2761358 С1 07 декабря 2021 г.), 4 публикации в сборниках работ научных конференций.

Структура и содержание диссертации

Диссертация Одилова А.А. построена по классическому образцу. Диссертация состоит из введения, глав: обзора литературы, материалы и методы, результатов собственных исследований, главы с обсуждением полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Текст изложен на 122 страницах, иллюстрирован 8 таблицами и 39 рисунками. Список литературы включает 194 источников, из них 12 отечественных и 182 иностранных.

Введение раскрывает актуальность выбранной автором темы.

Цель и задачи сформулированы четко. Научная новизна, практическая значимость, и вывод логично вытекают из результатов собственных исследований.

Обзор литературы подробный, что свидетельствует о достаточной информированности автора об исследуемой проблеме. Глава состоит из шести частей, в которых приводятся современные сведения COVID-19, вирусологии и филогенезе коронавируса SARS-CoV-2, патоморфологической картине легких при COVID-19, о преимуществах и недостатках существующих методов детекции коронавируса в различных биологических образцах, в том числе тканях.

Глава «Материалы и методы» представляет собой совокупность подходов, используемых для выполнения диссертационной работы. Подробно описаны вопросы вирусологической безопасности и техники забора биоматериалов у пациентов с COVID-19. Приводятся сведения об оригинальных наборе и способе количественной оценки вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в тканях различных органов, разработанных диссертантом и соавторами. Приведены иммуногистохимического исследования и техника пробоподготовки к электронной микроскопии, а также даны подробные характеристики методов статистического анализа полученных данных.

Глава «Результаты собственных исследований» содержит основную часть работы и состоит из пяти разделов. В главе представлены общая характеристика пациентов,

результаты патоморфологических, молекулярно-генетических, иммуногистохимических и электронно-микроскопических исследований тканей легких и других органов пациентов, умерших с COVID-19. Приведены частота обнаружения и значения уровня вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в легких и других жизненно важных органах, а также результаты корреляционного анализа полученных данных со временем пребывания пациентов в отделениях реанимации и интенсивной терапии, и характером гистопатологических изменений в легких. Результаты гистологических, иммуногистохимических и электронно-микроскопических исследований наглядно проиллюстрированы рисунками и таблицами.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автор приводит обобщение и сопоставление полученных им результатов с данными литературы.

Автореферат соответствует основному содержанию диссертации, написан грамотным литературным языком.

Имеются отдельные стилистические замечания, которые не влияют на положительную оценку и не снижают научной и практической значимости диссертационной работы. Принципиальных замечаний к работе не имею.

В диссертации не приводятся данные о длительности заболевания, а только продолжительность госпитализации. Возможно использование этого показателя дало бы другие корреляционные взаимосвязи между исследованными автором морфологическими и иммуногистохимическими параметрами.

В качестве дискуссии на одном из рисунков электронной микроскопии возникло сомнение, что рядом лежащие структуры могут быть митохондриями, порезанные продольно и поперечно, а не вирусными частицами в лимфоците (рис 9 с в автореферате).

Заключение

Диссертационная работа Одилова Акмалжона Адхамжоновича «Патоморфологическое, молекулярно-генетическое, иммуногистохимическое и электронно-микроскопическое исследование легких при COVID-19», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решаются важные научные задачи: патологоанатомического и молекулярно-генетического исследований ткани легких при COVID-19, а именно количественная оценка уровня вирусной нагрузки в легких с корреляцией значений вирусной нагрузки с характером гистопатологических изменений в легких; количественная оценка вирусной нагрузки SARS-CoV-2 способствующая мульти-органной диссеминации коронавируса; а также исследование тканевого и клеточного

