

РЕЦЕНЗІЯ

Кандидата медичних наук

Нагібіна Василя Сергійовича

на дисертаційну роботу аспіранта

Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

Дубровського Євгена Ігоровича

«МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ТА ІМУННІ МЕХАНІЗМИ ВАЖКОГО
ПЕРЕБІГУ КОРОНАВІРУСНОЇ ХВОРОБИ (COVID-19)»,

що подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

за спеціальністю 222 «Медицина»

до спеціалізованої вченої ради ID PhD 7451

Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця.

Актуальність теми

Інфекційні захворювання загалом, та респіраторні вірусні інфекції зокрема, вже протягом тривалого часу займають одне з основних місць у структурі поширеності хвороб серед населення не тільки в Україні, а й в цілому світі, включаючи високо розвинені країни. Коронавірусна хвороба (COVID-19) взагалі викликала пандемію в усьому світі, значно збільшивши витрати всіх країн на охорону здоров'я та призвівши до значного підвищення смертності. Розрахункові показники ресурсу Global Burden of Diseases (<https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>) свідчать, що досі, зокрема у 2023-му році в Україні показник років життя, втрачених через смерть або непрацездатність, пов'язану з COVID-19, є дуже високим і становить 5366 втрачених років на 100 000 населення (для порівняння всі інфекційні захворювання, включаючи соціально-небезпечні, забирають 7795,9 роки на 100 000 населення). Таким чином COVID-19 є провідним захворюванням у структурі інфекційної патології в Україні та більшості інших країн. Висока смертність, пов'язана з цим захворюванням, робить дану роботу ще більш актуальною.

В основі важкого перебігу COVID-19 та гострого респіраторного дистрес синдрому будь-якого іншого генезу лежить патологічний процес гіпоксія. Не зважаючи на те, що гіпоксія має дуже тривалу історію вивчення, пошук нових маркерів її перебігу, прогнозу ефективності лікування, а також потенційних шляхів терапевтичного впливу лишається надзвичайно актуальним в усьому

світі. В цьому контексті цікавим є дослідження експресії тих чи інших генів за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі, що виконується на взірцях крові пацієнтів, які тільки поступають у стаціонар або звертаються за амбулаторною медичною допомогою. Відтак, актуальність обраної теми станом не тільки на початок пандемії, коли була виконана основна частина роботи, а й станом на зараз, важко переоцінити.

Зв'язок роботи з державними науковими програмами, темами, планами.

Дисертаційна робота виконана в рамках відомчої теми НДР відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України № III-10-19: «Значення довгих некодуючих РНК в механізмах розвитку експериментальної та клінічної патології» (державний реєстраційний номер — 0118U007348, 2019-2023 рр.) за цільовою програмою «Підтримка пріоритетних для держави наукових досліджень і науково-технічних (експериментальних) розробок відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України (реєстраційний номер 0120U101281, 2021р.).

Повнота виконання

За темою дисертації опубліковано 8 наукових праць, з них 4 статті та 4 тез доповідей. Всі статті опубліковані в журналах, які представлені у базі даних Scopus і за рейтингом Scimago віднесені до четвертого квартиля (Q4). Тези опубліковані в матеріалах проведених конференцій. Наявність інформованої згоди пацієнтів, залучених у дослідження, зазначені у дисертаційній роботі.

Наукова новизна

Особливістю даної роботи є те, що дослідження експресії генів виконане на етапі госпіталізації пацієнтів, коли ступінь тяжкості перебігу захворювання та його наслідки ще не були відомі. Це робить визначені зміни у експресії різних генів, залучених до регуляції імунних функцій організму та відповіді на гіпоксію, прогностичною ознакою важкості перебігу COVID-19, що може бути адаптоване та використане у подальшій медичній практиці навіть на

амбулаторному етапі. Крім того робота проведена не тільки на генетичному рівні зі залученням методу полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі, а й на первинній культурі ізольованих нейтрофілів із визначенням спонтанного та індукованого формування нейтрофільних позаклітинних пасток (Neutrophil extracellular traps, NETs), що додатково підтверджене визначенням рівнів позаклітинної ДНК та специфічної нейтрофільної мієлопероксидази у плазмі крові відповідних пацієнтів. Таким чином в роботі вперше встановлено, що параметри позаклітинної ДНК та мієлопероксидази у плазмі крові можуть бути надійними предикторами тяжкості перебігу коронавірусної хвороби у пацієнтів з групи ризику. Визначено порогове значення рівня позаклітинної ДНК, яке асоціюється з важчим перебігом COVID-19, а отримані результати підтверджені відповідними статистичними методами.

Крім того, в роботі вперше визначено не тільки експресію певних генів, а й рівні експресії довгої некодуєчої РНК HAS2-AS1, залученої до регуляції синтезу гіалуронової кислоти, яка є важливим патогенетичним чинником розвитку дихальної недостатності. При цьому встановлено, що рівень експресії HAS2-AS1 в лейкоцитах пацієнтів з COVID-19 є більш надійним прогностичним критерієм важкого перебігу, ніж рівень самої гіалуронової кислоти в плазмі крові.

Нарешті, вивчаючи безпосередню відповідь організму на гіпоксію за допомогою оцінки системи фактору, що індукується гіпоксією (HIF), а саме з визначенням співвідношення між рівнями експресії генів субодиниць цього фактору HIF-1 α , HIF-2 α та HIF-3 α й, додатково, із визначенням рівня експресії довгої некодуєчої РНК HIF1A-AS1, в роботі вперше продемонстровано, що рівень експресії цієї довгої некодуєчої РНК зростає у важких пацієнтів з COVID-19 з групи ризику ще на догоспітальному етапі до настання клінічних ускладнень та важкої гіпоксії, а співвідношення між рівнями експресії HIF-1 α , HIF-2 α та HIF-3 α має різний паттерн залежно від подальшого перебігу захворювання й може бути ключовим у визначенні тяжкості COVID-19.

Ступінь обґрунтування висновків

Мета та завдання роботи логічно пов'язані з висновками. Методи, використані у роботі є обґрунтованими та логічними по відношенню до завдань дослідження. Отримані результати логічно пов'язані та достатні для

сформованих висновків. Обрані статистичні методи є також обґрунтованими та логічними по відношенню до завдань дослідження.

Теоретичне та практичне значення

Описані в роботі результати окрім очевидної наукової новизни мають високе практичне значення, оскільки можуть бути адаптовані до практичних рекомендацій визначення догоспітальних маркерів прогнозу тяжкості перебігу COVID-19 у пацієнтів з групи ризику. Серед них найбільшу цінність можуть мати маркери активації та руйнування нейтрофілів (нейтрофільних позаклітинних пасток), таких як позаклітинна ДНК та мієлопероксидаза плазми крові. Ці фактори визначаються без використання полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі, а за допомогою флуоресцентних методів, а отже мають не таку високу вартість. Додаткове визначення факторів, що залучені до регуляції гіалуронової кислоти (HAS2-AS1) та гіпоксії (HIF1-AS1 та HIF-3 α), покращить прогнозування та моніторинг важкого перебігу COVID-19. Інтеграція цих даних у клінічну практику допоможе посилити комплексну ранню діагностику та прогнозування перебігу хвороби й оптимізувати лікування. Таким чином, отримані результати дисертаційної роботи мають як теоретичне, так і практичне значення.

Структура і обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 164 сторінках. Список літератури є сучасним та відповідає темі роботи. Усі необхідні розділи присутні у дисертаційній роботі та розташовані у логічній і коректній послідовності.

Запитання та зауваження

1. Так звані «матові скельця» не є патогномонічною ознакою коронавірусної хвороби. Вони були відомі раніше при інших захворюваннях. Чи завжди в «матових скельцях» присутня саме гіалуронова кислота, де вона синтезується? Чи синтезується вона також при гострому респіраторному дистрес синдромі іншого генезу?

2. Що стається з NF- κ B при нормоксії (описана тільки регуляція альфа субодиниць)?
3. Чи передбачалася схемою дослідження рандомізація пацієнтів за віком, за ІМТ чи іншими параметрами?
4. Експресія всіх генів визначалася тільки в лейкоцитах. Відповідно виникає запитання для практичного застосування отриманих результатів: чи можна виділяти лейкоцити здорової людини, стимулювати їх та перевіряти наперед потенційну відповідь організму на потенційну вірусну інфекцію *in vitro*.
5. Оскільки головною у боротьбі з вірусом є, все ж таки, Т-клітинна ланка імунітету, вивчення слабкості якої не було метою цієї роботи, виникає запитання, чи описані в даній роботі чинники, що мають високі прогностичні перспективи, є наслідком гіперактивації неспецифічного імунітету самого по собі, чи результатом первинної слабкості Т-клітинної ланки?
6. Чи існують літературні дані, або чи планується дисертантом дослідження асоціації описаних змін у експресії генів із певними генетичними поліморфізмами самих цих генів, або генів, залучених до регуляції їх експресії?

Висновок

Зазначені зауваження не впливають на кінцевий результат та сформовані висновки, та скоріше є запитаннями до дискусії.

На підставі вищезазначеного вважаю, що дисертаційна робота Дубровського Євгена Ігоровича є завершеною кваліфікаційною науковою працею та може бути рекомендована до захисту.

Робота оформлена згідно з вимогами до оформлення дисертації, затвердженими Наказом Міністерства освіти та науки України від 12 січня 2017 р. №40. За актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, обсягом виконаних досліджень дисертація відповідає вимогам, передбаченим «Порядком підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», затвердженим постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року №261 (зі змінами і доповненнями від 3 квітня 2019 року №283, від 23 травня 2023 року №502 та від

03.05.2024 №507) та «Порядком присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженим Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 (зі змінами згідно з Постановою Кабінету Міністрів України від 21 березня 2022 р. №341, від 19.05.2023 №502 та від 03.05.2024), вимогам до опублікування результатів дисертацій, а її автор, Дубровський Євген Ігорович, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань «22 – Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Рецензент:

Василь Нагібін, к.м.н.,

Відділ загальної та молекулярної патофізіології

Інститут фізіології ім. О.Богомольця НАН України

naigibin@biph.kiev.ua.

