

ВІДГУК ОФІЦІЙНОЇ ОПОНЕНТКИ

**докторки медичних наук, професорки, член-кореспондентки
НАН України, завідувачки кафедри клінічної імунології та
алергології Львівського національного медичного університету ім.**

**Данила Галицького Чопяк Валентини Володимирівни
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)»**

**подану до спеціалізованої вченої ради ID PhD 7451
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України
на здобуття ступеня доктора філософії за
спеціальністю 222 "Медицина"**

Актуальність обраної теми

Пандемія SARS-CoV-2 показала багато проблем організації надання медичної допомоги людям. Особливо на себе звертали пацієнти з надвагою, гіпертонічною хворобою, цукровим діабетом, які мали тяжкий та надтяжкий перебіг коронавірусної хвороби. Частина з них мали блискавично швидке наростання тяжкості респіраторного дистрес синдрому. Це створювало велику напругу в діяльності інфекційних та ковідних відділень у лікарнях, часто перевантаження палат інтенсивної терапії та відділень реанімацій. Отже, численні проблеми медичного сортування та своєчасного надання медичної допомоги за умов великої кількості пацієнтів в медичних закладах ставлять чіткі вимоги щодо ранньої діагностики тяжкого перебігу респіраторних інфекцій, в першу чергу, серед груп ризику.

Для вирішення цих питань в стаціонарах та розширення можливості своєчасної амбулаторної допомоги дуже важливим пошук нових та точних прогностичних маркерів не гострого респіраторного дистрес синдрому та поліорганної недостатності.

Нам відомі за умов COVIDу певні показники тяжкості перебігу - високий рівень D-димеру, феритину, прокальцитоніну, ІЛ-6, С-реактивного білка, молочної кислоти, лактатдегідрогенази, знижена кількість лімфоцитів, рівня альбуміну. Але їх специфічність і чутливість не є достатньо високими.

У сучасних умовах, працюючи з ковідними пацієнтами, лонгковідом, постковідним синдромом, ми розуміємо, що недооцінена роль нейтрофілів, нейтрофільних пасток, їх некротизуючих ферментів, участь позаклітинної ДНК, посилене утворення гіалуронової кислоти та особливо молекулярно-генетичних процесів пов'язаних з ними - експресії довгих некодуючих РНК гіалуронан-синтетази та факторів, індукованих гіпоксією, рецептором m-TOR, який тісно пов'язаний важливим сигнальним шляхом і впливає на активність синтезу регуляторних білків. Ці процеси відбиваються на активності імунної відповіді, на її дизрегуляції, визначають гіперкоагуляційний дизбаланс.

Таким чином, актуальність дисертаційної роботи не викликає сумнівів, а практичні рекомендації дуже важливі для медицини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконувалась 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.).

Новизна наукових положень, висновків і рекомендацій, теоретичне та практичне значення

Автором дисертаційного дослідження було отримано цілий ряд нових, поглиблених даних щодо спонтанного та індукованого формування нейтрофільних позаклітинних пасток (NETs), зростання показників пк ДНК, мієлопероксидази крові у пацієнтів з різним ступенем тяжкості COVID-19. Визначено порогове значення рівня пк ДНК, яке асоціюється з тяжким перебігом.

Досліджено рівні експресії довгої некодуючої РНК трансмембранного ізоферменту - антисенс-1 гіалуронан-синтетаза 2 в лейкоцитах пацієнтів з COVID-19. Антисенс-1 гіалуронансинтетаза 2 є надійним прогностичним критерієм з визначенням ступеня тяжкості перебігу коронавірусної хвороби : легкого, середнього чи тяжкого вже на етапі госпіталізації. Встановлена висока чутливість - 0.88 та специфічність - 0.8 антисенс-1 гіалуронан-синтетаза 2, що є ефективним інструментом для індивідуального прогнозування тяжкості перебігу.

Проведене дослідження показало патогенетичну роль трьох ізоформ транскрипційного фактору HIF, а співвідношення між рівнями експресії трьох факторів індукованих гіпоксією - HIF-1 α , HIF-2 α та HIF-3 α у пацієнтів характеризувало різну тяжкістю перебігу COVID-19. Рівень експресії антисенс-1 фактору, індукованого гіпоксією - продемонстрував різке його зростання у пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19, які є групою ризику ще на дошпитальному етапі - до настання тяжкої гіпоксії з розвитком гострого респіраторного дистрес синдрому. Визначено порогове значення цього показника, а також показано високу його специфічність та чутливість. Такий результат свідчить про ідеальну здатність маркера HIF1-AS1 виявити здорових осіб та пацієнтів навіть з легким перебігом COVID-19. Цікаво, що цей показник не має

хибнопозитивних результатів. Він виявився найбільш впливовим прогностичним маркером серед інших ізоформ транскрипційного фактору індукovanого гіпоксією.

Практична значимість отриманих результатів

Практичні результати мають високу значимість і дозволяють надати лікарям рекомендації для використання нових предикторів тяжкості перебігу COVID-19 у пацієнтів з групи ризику, а саме: маркери запалення (мієлопероксидаза, позаклітинна ДНК), судинної проникності (антисенс-1 гіалуронан-синтетаза 2) та гіпоксії (антисенс-1 фактору індукovanого гіпоксією 1 та HIF-3 α). Це дозволить покращити прогнозування та моніторинг тяжкого перебігу COVID-19, а також оптимізувати лікування. Дасть можливість розвантажити стаціонарне лікування і визначити пацієнтів, які потребують інтенсивної та реанімаційної медичної допомоги.

Обґрунтованість і достовірність отриманих наукових результатів

Наукові положення, висновки та практичні рекомендації, викладені в дисертаційній роботі Є.Дубровського, є достовірними та обґрунтованими. Вони забезпечені достатньою кількістю контрольної групи практично здорових осіб та пацієнтів, які мали коморбідні стани – ожиріння, артеріальну гіпертензію та діабет 2 типу. Згідно міжнародних критеріїв визначені ступені тяжкості коронавірусної хвороби у досліджуваних пацієнтів. Всі методи дослідження базуються на доказовому методологічному підході з використанням інформативних біохімічних та імунологічних методів (спектофотометрія, імуноферментний аналіз, імунофлюоресценція), а також молекулярно-

генетичних (зворотна транскрипція, полімеразно-ланцюгова реакція тощо) та сучасного статистичного аналізу отриманих результатів.

Усі дослідження було погоджено Комісією з біоетики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України та локальною етичною комісією КМКЛ№4. Усі учасники надали письмову інформовану згоду.

Висновки відображують результати власних досліджень, зумовлюють наукову новизну, теоретичну і практичну значимість дисертаційної роботи.

Оцінка змісту, оформлення й обсягу дисертації

Робота викладена на 164 сторінках друкованого тексту та складається з вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, розділу з описом власних досліджень та розділу результатів, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних 203 джерел, з них більшість латиницею; додатків

Дисертаційна робота Дубровського Є.І. є завершеною науковою працею, яка характеризується ґрунтовним плануванням, цілісністю змісту, виконана на належному науковому рівні та має теоретичну і практичну значимість.

Дисертаційна робота написана літературною українською мовою, побудована за традиційною схемою і містить всі необхідні розділи, а саме – вступ, огляд літератури, матеріали і методи, розділ власних результатів та розділ їх аналізу, висновки та список літератури із 203 найменувань. Анотація дисертації відображує її основний зміст і розкриває основні результати роботи, ключові слова, які повністю відповідають її змісту.

Огляд літератури охоплює три підрозділи, які висвітлюють питання коронавірусної хвороби та її механізмів, пов'язаних з нейтрофілами, патогенетичні механізми утворення нейтрофільних позаклітинних пасток (NETs), роль гіалуронової кислоти та її накопичення при респіраторних

захворюваннях, а також вплив фактору HIF на гіпоксичні реакції в умовах COVID-19. Особливу увагу приділено недостатній вивченості ролі довгих некодуючих РНК, зокрема антисенс-1 гіалуронансинтетаза 2 та антисенс-1 індукованого фактору гіпоксії 1- у механізмах розвитку коронавірусної хвороби, що вказує на необхідність подальших досліджень їх прогностичної значущості та підтвердження їх використання для ранньої діагностики й прогнозування.

Відповідно до літературних даних у дисертації сформульовано **мету** дослідження та відповідні **завдання**. Завдання повністю відповідають поставленій меті та розкриваються у подальших розділах даної роботи.

Об'єкт та **предмет** дослідження відповідають меті і завданням. **Методи дослідження** є сучасними, відповідають вирішенню поставлених завдань і отримання об'єктивних результатів. Вони досить детально описані у відповідному розділі дисертаційної роботи.

Розділ власних результатів автора містить докладний опис клінічних груп, результати загальних лабораторних, спеціальних біохімічних, імунологічних, молекулярно-генетичних досліджень на крові пацієнтів з COVID-19.

Результати детально описані в 10-и підрозділах третього розділу дисертації. Вони проілюстровані достатньою кількістю рисунків і таблиць, якісно виконаних та з відповідними підписами й статистичною обробкою. Показовими є дані кореляцій між рівнем пкДНК, мієлопероксидази та гіалуронової кислоти й тяжкістю перебігу коронавірусної хвороби. Серед результатів роботи особливу цінність мають вперше здійснені виміри експресії довгих некодуючих РНК антисенс-1 гіалуронан-синтетаза 2 (HAS2-AS1) та антисенс-1 фактору індукуючого гіпоксію 1 та різних ізоформ транскрипційного фактору HIF в лейкоцитах пацієнтів з різним ступенем тяжкості. Отримані результати мають безперечну **новизну**, завдячуючи ним ми маємо розширення

уявлення про патогенетичні особливості тяжкого перебігу COVID-19, з поглибленим розумінням імунологічних та гемокоагуляційних наслідків.

У **заключному розділі** автор аналізує отримані власні результати через призму великого масиву свіжих літературних даних навколо досліджень патогенезу коронавірусної хвороби, щоб з їх допомогою сформувати єдину картину взаємозв'язку досліджуваних параметрів та їх ролі в розвитку ускладнень за умов COVID-19. У кінці розділу запропоновано узагальнену схему досліджених показників.

Висновки чітко пов'язані з метою роботи та розкривають її завдання, які відображаються в основних результатах роботи.

Для обґрунтування теми дисертаційного дослідження та інтерпретації результатів роботи проаналізовано достатню кількість сучасних наукових літературних джерел.

Повнота оприлюднення та публікації результатів дисертації

За темою дисертації опубліковано 8 наукових праць, з них 4 статті та 4 тез доповідей. Всі статті опубліковані в журналах, представлених у базі даних Scopus четвертого квартиля (Q4). Тези опубліковані в матеріалах проведених конференцій, на яких були виступи автора.

Особистий внесок здобувача

Спільно з науковим керівником автор визначив ключові напрямки дисертаційної роботи, мету і завдання, дизайн, обрані методи дослідження, сформулював висновки і практичні рекомендації. Автор самостійно проаналізував сучасну наукову літературу, лікував пацієнтів та сформував згідно тяжкості перебігу три дослідні групи, приймав участь у проведенні

усіх досліджень, здійснив первинну обробку результатів досліджень, сформував електронну базу даних, статистично опрацював результати. Разом із співавторами написав та оформив наукові публікації.

Перевірка на наявність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності

Проведена уповноваженим органом Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України і показала відсутність ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації; текст представлених матеріалів дисертації є оригінальним не містить порушень академічної доброчесності, про що видана довідка встановленого зразку.

Відповідність дисертації спеціальності та профілю спецради

Дисертація відповідає паспорту спеціальності «Медицина» і профілю одноразової спеціалізованої вченої ради.

Зауваження та питання

У тексті дисертаційної роботи наявні граматичні, стилістичні, пунктуаційні помилки, є певні зауваження щодо форматування. Вважаю більш доцільним було б власні результати розбити на 3 окремі розділи, де детально було б можна описати клінічні, біохімічно-імунологічні та молекулярно-генетичні виявлені особливості щодо різної тяжкості перебігу коронавірусної хвороби. Цікавим би було порівняння груп пацієнтів з COVID-19 без метаболічних та серцево-судинних факторів ризику. Після кожного підрозділу варто було б робити коротке резюме отриманих результатів. Особливо приваблива була математична модель

прогнозування тяжкого перебігу коронавірусної хвороби на основі отриманих результатів.

Проте, наведені зауваження не стосуються суті та методології роботи та не зменшують її наукового і практичного значення. У плані наукової дискусії хотілось би отримати відповіді на наступні питання:

1. Чому Ви обрали багато клінічних факторів ризику щодо тяжкості перебігу коронавірусної хвороби (ожиріння, цукровий діабет 2 типу, гіпертонічна хвороба)?
2. Ви досліджували рецептор m-TOR, який тісно пов'язаний з сигнальним шляхом фосфатидил-інозитол-3-кінази, і може активно впливати на білковосинтезуючу функцію клітин, зокрема лімфоцитів. Він в перспективі розцінюється як регуляторний маркер інтенсивності імунної відповіді. Ви, напевно, не отримали переконливих результатів?
3. Чи були особливості лікування пацієнтів з ризиком тяжкого перебігу коронавірусної хвороби?

Висновок про відповідність дисертації вимогам, які висуваються до наукового ступеня доктора філософії

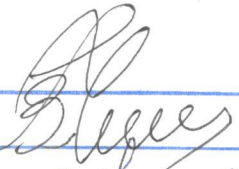
На підставі вищезазначеного вважаю, що дисертаційна робота Дубровського Євгена Ігоровича є завершеною кваліфікаційною науковою працею, що містить теоретичне узагальнення та практичне вирішення актуального наукового завдання в галузі 22 «Охорона здоров'я», яке полягає у розкритті молекулярних патогенетичних та імунних механізмів коронавірусної хвороби та обґрунтуванню нових ефективних прогностичних біомаркерів важкого перебігу COVID-19. Робота оформлена згідно з вимогами до оформлення дисертації, затвердженими Наказом Міністерства освіти та науки України від 12 січня 2017 р. № 40.

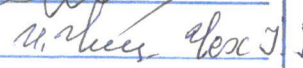
За актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, обсягом виконаних досліджень дисертація відповідає вимогам, передбаченим «Порядком підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових 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 3 травня 2024 року №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 травня 2023 року №502 та від 3 травня 2024 року), 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».

Офіційна опонентка:

**Завідувачка кафедри клінічної імунології
ЛНМУ імені Данила Галицького
та алергології,
д.мед.н., професорка,
член-кор. НАНУ**



Підпис 

Засвідчую 

Провідний фахівець
відділу кадрів
ЛНМУ ім. Данила Галицького

Валентина Чопяк