

## ОТЗЫВ

**официального оппонента Кюрегяна Карена Кареновича на диссертацию Марченко Владимира Александровича «Функциональная активность кровеносных сосудов при экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 1.5.10. – Вирусология.**

### **Актуальность темы диссертационного исследования.**

Патогенез инфекции, вызываемой вирусами гриппа, является актуальной и активно исследуемой в настоящее время проблемой. Связь между гриппозной инфекцией и поражением сердечно-сосудистой системы давно подтверждена клиническими наблюдениями и статистикой избыточной смертности от сердечно-сосудистых заболеваний на фоне эпидемических подъемов гриппа. В то же время, точные механизмы патогенного влияния вируса гриппа на сердечно-сосудистую систему пока не установлены. В настоящее время известно, что вирус гриппа способен реплицироваться в клетках эндотелия кровеносных сосудов, что сопровождается их дисфункцией и опосредованным влиянием в целом на систему гемостаза. Однако механизм развития дисфункции эндотелия при гриппе до конца не выяснен, что не дает возможность прогнозирования развития осложнений при гриппе, особенно у больных, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями. Установлено, что при инфекции, вызванной вирусом гриппа, происходят изменения активности ряда эндотелиальных факторов, являющихся регуляторами системы гемостаза, однако данные по механизмам воздействия вируса гриппа на функциональную активность кровеносных сосудов и экспрессию эндотелиальных факторов *in vivo* отсутствуют.

В связи с вышеизложенным, тема диссертационной работы Марченко В.А. «Функциональная активность кровеносных сосудов при экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09» представляется актуальной.

### **Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.**

Полученные в результате работы результаты, сформулированные выводы и выносимые на защите положения полностью соответствуют цели и задачам исследования. Диссертационное исследование выполнено на современном методическом уровне, достоверность полученных результатов не вызывают сомнения. Цель и задачи диссертационного исследования изложены четко и по своей значимости соответствуют уровню исследований,

необходимому для представления кандидатской диссертации и соответствуют паспорту специальности 1.5.10. - Вирусология. Научные положения и выводы диссертации логично следуют из полученных результатов.

### **Достоверность и новизна результатов диссертации.**

Достоверность полученных автором результатов определяется высоким экспериментальным уровнем работы и тщательным анализом полученных результатов. Достоверность результатов экспериментов определяется использованием в работе стандартных методик, контролей и строгим соблюдением условий проведения опытов.

Для решения задач исследования автором привлечен и адекватно использован широкий спектр вирусологических, иммуногистохимических и биоинформатических методов. Полученные данные интерпретированы корректно и подвергнуты адекватной статистической обработке. Основные научные положения диссертационной работы прошли экспертизу при публикации в виде научных статей в рецензируемых журналах, а также при представлении в виде докладов на научных конференциях.

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что автором получены приоритетные данные о функциональной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс, инфицированных вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09, в том числе при экспериментальном моделировании острой кардиомиопатии. Значительным вкладом автора являются новые данные об изменениях уровней экспрессии эндотелиальных факторов при экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09 *in vitro* и *in vivo*. Также автором получены новые данные, свидетельствующие о системном воздействии инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09, на кровеносные сосуды, что подтверждено наблюдавшимся при экспериментальной инфекции крыс изменением вазомоторной активности кровеносных сосудов не только легких, но и брыжейки. Кроме того, автором впервые установлено в экспериментальной модели острой кардиомиопатии у крыс, что вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 значительно усиливает дисфункцию эндотелия, что отражается в существенных изменениях вазомоторной активности артерий брыжейки крыс и уровня экспрессии эндотелиальных факторов.

### **Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов.**

Автором получены новые данные об особенностях развития дисфункции эндотелия при гриппе, способных послужить причиной развития сердечно-сосудистой патологии. Проведенные экспериментальные

исследования продемонстрировали изменения функциональной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс при моделировании на крысах инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)рdm09. В модели острой кардиомиопатии на этих же животных установлено еще большие изменения в вазомоторной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки вирусом при заражении гриппа А(Н1N1)рdm09, зарегистрированы гистологические изменения сосудов легких и обнаружены изменения в экспрессии ряда эндотелиальных факторов в эндотелии и плазме крови. Эти данные являются экспериментальным подтверждением и раскрытием одного из возможных механизмов негативного влияния гриппозной инфекции на заболевания сердечно-сосудистой системы.

Полученные в результате выполнения диссертационного исследования данные позволили автору рекомендовать проведение скрининга ангиопротекторов для включения их, наряду с этиотропными препаратами, в схему лечения гриппа для коррекции эндотелиальной дисфункции. Данная рекомендация имеет особую важность для лиц с сопутствующими заболеваниями сердечно-сосудистой системы и может способствовать снижению избыточной смертности от заболеваний сердечно-сосудистой системы при эпидемиях гриппа.

#### **Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах.**

Результаты диссертационной работы Марченко В.А. опубликованы в 10 статьях, включая две в журнале из списка ВАК и одну в высокорейтинговом зарубежном журнале, доложены на всероссийских конгрессах. Научные публикации и автореферат полностью отражают содержание диссертационной работы.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.**

Совокупность полученных автором результатов свидетельствует о целесообразности подбора ангиопротекторов для включения в терапию гриппа наряду с этиотропными препаратами с целью коррекции эндотелиальной дисфункции. Особенно это важно для лиц с сопутствующими заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Перспективным представляется проведение исследований по изучению длительности влияния вируса гриппа А(Н1N1)рdm09, а также других вирусов гриппа, на функциональную активность кровеносных сосудов в опытах *in vivo*, в том числе в экспериментальной модели хронической патологии сердечно-сосудистой системы.

## Структура работы

Диссертация построена по традиционному плану и содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений» и «Список литературы». Работа изложена на 166 страницах текста и содержит 34 рисунка и 16 таблиц. Библиографический указатель содержит 312 источников.

Во введении описаны актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, проблемы, на решение которых направлена работа, и сформулированы основные цели и задачи исследования и положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы состоит из четырех основных разделов. В первом автор дает подробную характеристику белков вирусов гриппа, в последующих – рассматривает механизмы патогенеза гриппа и патогенетическое влияние гриппа на сердечно-сосудистую систему, а также роль в нем эндотелия кровеносных сосудов.

В разделе «Материалы и методы» автор достаточно полно описывает все использованные в ходе выполнения работы экспериментальные процедуры. Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием как классических вирусологических, гистологических и физиологических, так и самых современных подходов, включая биоинформатические методы анализа аминокислотных последовательностей.

Раздел «Результаты и обсуждение» состоит из трех разделов и содержит описание полученных результатов и их анализ. В целом, проведенное исследование логично продумано и аккуратно выполнено. Первая глава раздела посвящена оценке влияния экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа A(H1N1)pdm09, на экспрессию эндотелиальных факторов в культуре клеток эндотелия. Вторая глава раздела посвящена анализу влияния данной инфекции на экспрессию эндотелиальных факторов и функциональное состояние кровеносных сосудов при экспериментальной инфекции у крыс. Третий раздел описывает влияние инфекции вируса гриппа A(H1N1)pdm09 на экспрессию эндотелиальных факторов и функциональное состояние кровеносных сосудов у крыс при экспериментальном моделировании острой кардиомиопатии. Каждая глава завершается обсуждением полученных результатов, выстроенным логично и нацеленным на обоснование сделанных автором выводов.

Автореферат диссертационной работы оформлен в соответствии с требованиями ВАК и полностью отражает содержание диссертации. Публикации по теме диссертации полностью соответствуют ее содержанию и содержат основные результаты работы.

### **Замечания и вопросы по содержанию работы.**

Работа содержит небольшое количество опечаток и несогласованных предложений, что, однако, не критично для восприятия работы. Положительно оценивая диссертационную работу Марченко В.А., необходимо, нем не менее, отметить ряд недостатков:

1. Ошибки в названиях глав 2.2.4.1 и 2.2.4.2 раздела «Материалы и методы» – методом ИФА определяли не антитела к эндотелиальным факторам tPA и PAI-1, как указано в названиях разделов, а сами факторы.

2. В разделе Материалы и методы глава 2.2.5.2 (Моделирование экспериментальной гриппозной инфекции на крысах) полностью дублирует текст, уже представленный в главе 2.2.1.3 (Инфекционная активность вируса гриппа A(H1N1)pdm09 в легких и брыжейке крыс).

Также при ознакомлении с диссертационной работой возникли несколько вопросов для уточнения:

1. Различаются ли разные вирусы гриппа по степени активности репродукции в клетках эндотелия и по своему патогенному воздействию на эндотелий кровеносных сосудов? Насколько данные, полученные в экспериментах со штаммом A(H1N1)pdm09, можно экстраполировать на другие вирусы гриппа?

2. Хотелось бы прояснить, с чем связан подъем продукции PAI-1 в культуре клеток эндотелия через 18 часов после заражения на фоне его снижения в другие временные точки? Не является ли это артефактом измерения. В работе не указано количество повторов данного эксперимента и, соответственно, воспроизводимость данного результата.

3. С чем может быть связаны выявленные изменения продукции излучавшихся эндотелиальных факторов в эпителии сосудов брыжейки у крыс с острой кардиомиопатией, если там не выявлен NP антиген и не выделен инфекционный вирус?

Указанные замечания и вопросы не снижают общей положительной оценки данной диссертационной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Марченко Владимира Александровича на тему: «Функциональная активность кровеносных сосудов при экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа A(H1N1)pdm09» представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением

Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (с изменениями в ред. Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016, №650 от 29.05.2017, №1024 от 28.08.2017, №1168 от 01.01.2018, №426 от 20.03.2021), предъявляемым к кандидатским и докторским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.10. – Вирусология.

Официальный оппонент:

Заведующий отделом социально значимых вирусных инфекций Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России  
доктор биологических наук (1.5.10. – Вирусология), профессор РАН  
тел.: 8 (495) 680-05-99,  
e-mail: karen-kyuregyan@yandex.ru

Кюрегян Карен Каренович

Подпись Кюрегяна К.К. удостоверяю.

Ученый секретарь  
ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России  
доктор медицинских наук, профессор



Чеботарёва Татьяна Александровна

«26» сентября 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Адрес: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

Тел.: +7 (800) 505-22-12, +7 (495) 680-05-99 доб.900; факс: +7 (499) 254-98-05

E-mail: rmapo@rmapo.ru, <https://rmapo.ru>