

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Сайтгалиной Марии Александровны на тему «Оценка состояния иммунной системы пациентов при вирусных инфекциях с помощью количественного определения молекул TREC и KREC в периферической крови», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика и 3.2.7. Иммунология

Поиск наиболее информативных лабораторных маркеров, способствующих обнаружению иммунодефицитных состояний, как первичных, так и приобретенных, является актуальной задачей отечественного здравоохранения, поскольку способствуют решению не только диагностических задач, стоящих перед клиницистом, но и расширению представлений о механизмах, задействованных в повреждение различных звеньев иммунной защиты. Несвоевременная постановка диагноза задерживает назначение эффективной терапии и, как следствие, приводит к необратимым осложнениям и летальным исходам. Существующие методы выявления дефектов T- и B-клеточного звена иммунитета не в полной мере устраивают клиницистов, в связи с чем происходит поиск более информативных новых лабораторных маркеров. Последние годы внимание специалистов привлекли методы количественной оценки эксцизионных колец TREC и KREC в периферической крови с применением ПЦР в реальном времени (real-time ПЦР).

Выполненная проработка литературных источников по изучаемой проблеме позволила М.А. Сайтгалиной выявить основные проблемы количественного анализа TREC и KREC в периферической крови с применением ПЦР в реальном времени у пациентов с дефектами T- и B-клеточного звена иммунной защиты и оценить возможность их использования в качестве перспективных лабораторных маркеров у пациентов с различными формами иммунодефицитов.

В ходе разработки тест-системы для количественной оценки ДНК-молекул TREC и KREC в периферической крови с детекцией результатов в режиме реального времени были решены сложные методические проблемы.

Для корректной оценки уровня экспрессии исследуемых генов были выбраны нормировочные гены, что снижает вариабельность и повышает чувствительность выбранного метода. Амплификация целевых молекул ДНК (TREC и KREC) и нормировочных генов (HPRT и PRR 30) обеспечила совпадение результатов измерений при постановке на приборах различного типа - планшетных и роторных. Подобный подход обеспечил сопоставимость получаемых результатов при работе с цельной кровью и сухими каплями крови.

Разработанная тест-система, как и многие другие ПЦР-тесты, не является технологически сложной, она доступна для использования не только в научно-исследовательских лабораториях, но и молекулярно-биологических отделах клинично-диагностических лабораторий.

Результаты апробации и валидизация созданного «Набора реагентов для количественного определения эксцизионных колец TREC и KREC методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени позволили впервые решить ряд важных клинических задач:

- Определить референтные интервалы содержания эксцизионных колец TREC и KREC в периферической крови в шести возрастных группах взрослого населения Санкт-Петербурга;
- Апробировать тест-систему для количественной оценки ДНК-молекул TREC и KREC в периферической крови у лиц с острой и хронической вирусной инфекцией;
- Провести валидацию разработанной тест-системы для прогноза тяжести течения и исхода заболевания в острый период у больных COVID-19, а также для оценки выраженности дефектов Т- и В-клеточного звена иммунной защиты у пациентов с ВИЧ-инфекцией в зависимости от сроков с момента инфицирования, вирусной нагрузки, эффективности антиретровирусной терапии.

Кроме того, полученные результаты указывают на перспективность эффективного использования мультиплексной ПЦР как для комплексного первичного тестирования/скрининга новорожденных, так и для оценки дефектов Т- и В-клеточного звена иммунной защиты.

Разработанный молекулярно-биологический метод диагностики иммунодефицитных состояний при вирусных инфекциях с помощью количественного ПЦР-анализа молекул TREC и KREC обеспечивает раннюю диагностику тяжелых нарушений развития иммунного ответа, опосредованного функциями Т- и В-лимфоцитов, и, кроме того, как показано на примере новой коронавирусной инфекции COVID-19, позволяет прогнозировать тяжесть заболевания.

Степень достоверности полученных Сайтгалиной М.А. данных, их научная новизна и практическая значимость не вызывает сомнений. Результаты работы могут быть использованы в практическом здравоохранении врачами-инфекционистами, врачами-иммунологами для выявления нарушений в функционировании Т- и В-клеточного звена иммунитета с целью уточнения диагноза и планирования терапии.

Автореферат написан в общепринятой форме, и отвечает требованиям ВАК РФ. Представленные выводы четко сформулированы, и вытекают из полученных результатов. Основные положения диссертации представлены в 22 опубликованных работах.

Реализация результатов работы

Патент на изобретение: Останкова Ю.В., Сайтгалина М.А., Любимова Н.Е., Тотолян А.А. «Способ лабораторной персонифицированной диагностики состояния иммунитета пациентов и набор олигодезоксирибонуклеотидных праймеров, и флуоресцентно меченых зондов, и стандартных образцов». Пат. 2786211 с1, 19.12.2022., заявка № 2022107106 от 17.03.2022. Патентообладатель Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский институт

эпидемиологии и микробиологии им. Пастера».

Разработано медицинское изделие «Набор реагентов для количественного определения эксцизионных колец TREC и KREC методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени (TREC/KREC-Amp PS)», получено регистрационное удостоверение № MH-RUBY-000031 от 11 января 2023 г.

Заключение.

Судя по автореферату, представленные данные позволяют оценить диссертацию Сайтгалиной М.А. как законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение актуальной научной задачи-совершенствованию лабораторных методов оценки состояния иммунной системы пациентов при вирусных инфекциях с помощью количественного определения молекул TREC и KREC в периферической крови.

По актуальности темы, задачам, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов, обоснованности научных выводов диссертационная работа Сайтгалиной М.А. соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в пунктах 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции), а ее автор, Сайтгалина Мария Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научным специальностям 3.3.8. - Клиническая лабораторная диагностика и 3.2.7. - Иммунология.

Доктор медицинских наук, профессор
профессор кафедры клинической лабораторной диагностики,
биохимии и общей химии им. В.В. Соколовского
Федерального государственного бюджетного учреждения высшего
образования «Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Козлов А.В.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России)
191015, город Санкт-Петербург, Кирочная улица, дом 41/Пискаревский 47
Тел. 275-19-01, e-mail: anton.kozlov@szgmu.ru

Подпись Козлова А.В. заверяю Ученый секретарь
ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России
д.м.н. доцент



Трофимов Е.А.

10 июня 2024г.