

ОТЗЫВ

официального оппонента Курбачевой Оксаны Михайловны, доктора медицинских наук, профессора, заведующей отделением бронхиальной астмы ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России на диссертационную работу Козлова Евгения Максимовича на тему: «Оценка профиля сенсibilизации к молекулярным аллергенам Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 4, Can f 5, Can f 6 у пациентов с аллергией на собаку», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология

Актуальность избранной темы

Диссертационная работа Козлова Евгения Максимовича посвящена анализу сенсibilизации к молекулярным аллергенам собак и отражает современные приоритеты в развитии компонентной алергодиагностики. Переход от использования природных экстрактов к изучению индивидуальных белковых молекул является современным направлением молекулярной алергологии, позволяющим существенно повысить точность определения значимого аллергена в спектре сенсibilизации больного алергическим заболеванием.

Актуальность выбранной темы обусловлена тем, что аллергия на собак остаётся одной из наиболее распространённых форм эпидермальной сенсibilизации, а клиническое течение заболевания часто характеризуется вариабельностью и непредсказуемостью. Диагностические тесты, основанные на натуральных экстрактах, применяемые в рутинной практике, не позволяют выявить главный из спектра алергических компонентов, к которым есть сенсibilизация больного, из-за их биологической гетерогенности и наличия кросс-реактивных эпитопов. Это приводит к диагностическим ограничениям и затрудняет выбор последующей терапии.

Использование рекомбинантных алергенов Can f 1 – Can f 6 даёт возможность анализировать IgE-ответ на уровне отдельных молекул, что позволяет разграничивать первичную сенсibilизацию и реакции, обусловленные перекрёстным иммунным ответом. Такой подход соответствует принципам молекулярной алергологии, где каждая молекула рассматривается как независимый диагностический маркер с собственной клинической значимостью, структурными особенностями и функциональной активностью.

Важность исследования усиливается отсутствием в отечественной практике комплексных работ, включающих получение, структурную характеристику и клиническую оценку всей панели алергенов собак. Разработка отечественных рекомбинантных аналогов и их испытание в когорте пациентов России позволяет адаптировать международные достижения к национальным условиям и формирует основу для создания высокоспецифичных диагностических платформ.

Таким образом, представленная работа отвечает современным требованиям молекулярной медицины, направлена на повышение точности диагностики эпидермальной алергии и способствует формированию персонализированных

подходов в клинической аллергологии. Она имеет значимый научный и практический потенциал, что подчёркивает её высокую актуальность.

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

Выводы, представленные в диссертационной работе Козлова Евгения Максимовича, основаны на достоверных экспериментальных данных и строго соответствуют поставленным целям исследования. Каждое из сформулированных положений логически вытекает из результатов, полученных в ходе лабораторной и клинико-диагностической части работы, и обладает внутренней связностью с общей структурой диссертации.

Автором использован современный комплекс методических подходов, включающий молекулярно-биологические и биохимические методы, рекомбинантные технологии, анализ функциональной активности аллергенов на клеточных моделях, а также количественную оценку IgE-антител у пациентов с подтверждённой аллергией. Все применённые методики валидированы и соответствуют международным стандартам в области иммунодиагностики.

Особое внимание уделено обеспечению надёжности результатов: в экспериментальной части предусмотрены контрольные группы, повторные измерения и воспроизводимые протоколы. Для статистической обработки использованы проверенные аналитические методы, что гарантирует точность расчётов и корректность интерпретации. Результаты демонстрируют методическую целостность и не содержат произвольных обобщений, выходящих за рамки фактических наблюдений.

Практические рекомендации, сформулированные на основе анализа сенсibilизации к компонентам Can f 1 – Can f 6, отражают реальную клиническую применимость полученных данных. Они могут быть использованы при разработке диагностических алгоритмов, выборе мишеней для аллерген-специфической терапии и при формировании индивидуальных профилей аллергии у пациентов.

Таким образом, степень обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций, представленных в диссертации, следует признать высокой. Проведённое исследование отвечает требованиям к научной строгости и прикладной значимости и заслуживает положительной экспертной оценки.

Достоверность и новизна результатов исследования, полученных результатов

Обоснованность полученных результатов подтверждается применением комплекса современных и взаимодополняющих методик, охватывающих все ключевые этапы молекулярной диагностики аллергии. В экспериментальной части диссертации реализована полная технологическая цепочка: от генно-инженерной конструкции экспрессионных векторов до функциональной характеристики синтезированных аллергенов. Экспрессия молекул Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 5 и

Can f 6 в системе *E. coli* сопровождалась стандартизованной очисткой и верификацией их структурной целостности методами ПААГ-электрофореза, вестерн-блоттинга и спектроскопии кругового дихроизма. Результаты получены с использованием надёжных биотехнологических протоколов, применяемых в ведущих лабораториях молекулярной медицины.

Функциональная активность рекомбинантных белков была подтверждена с помощью клеточной модели дегрануляции базофилов и анализа специфических IgE-антител в клинических образцах методом ImmunoCAP. Привлечение репрезентативной когорты пациентов с подтверждённой аллергией на собак, а также воспроизводимость полученных данных в повторных сериях экспериментов обеспечивают высокую степень надёжности и валидности сделанных выводов.

Научная новизна исследования заключается в создании и оптимизации отечественных протоколов получения всей диагностической панели аллергенов Can f 1 – Can f 6 в растворимой форме. Особое значение имеет внедрение оригинального метода экспрессии Can f 5 без включения кросс-реактивных углеводных детерминант. Это позволило получить биологически активную молекулу с высокой антигенной специфичностью, пригодную для применения в дифференциальной диагностике истинной сенсibilизации.

Отдельное внимание в работе уделено сравнительной оценке аллергенной активности компонентов Can f 1 – Can f 6 с использованием функциональных тестов. Выявлены ключевые мажорные молекулы (Can f 1, Can f 4 и Can f 5), играющие ведущую роль в клинических проявлениях аллергии на собак. Установлены их дозозависимые эффекты и вариабельность иммунного ответа у различных групп пациентов, что расширяет представления о механизмах патогенеза и формирует научную основу для рационального выбора лечебных аллергенов для проведения аллерген-специфической иммунотерапии.

Таким образом, результаты диссертационной работы отличаются высокой степенью достоверности, подтверждённой экспериментально, и содержат ряд принципиально новых решений, имеющих значимость для развития молекулярной аллергологии. Исследование демонстрирует завершённость, самостоятельность и научную оригинальность, а его выводы обоснованы как с методологической, так и с клинической точки зрения.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Научные результаты, представленные в диссертации Козлова Евгения Максимовича, делают весомый вклад в развитие молекулярной диагностики аллергических заболеваний. Проведённое исследование позволило на уровне отдельных белковых компонентов уточнить иммунологические механизмы сенсibilизации к аллергенам собак, охарактеризовать их структуру, биологическую активность и клиническую значимость в российской популяции больных с аллергией на собак. Полученные данные углубляют представления о специфике IgE-

ответа при эпидермальной аллергии и способствуют уточнению роли отдельных молекул в патогенезе заболевания.

С практической точки зрения важным результатом является разработка полной панели рекомбинантных аллергенов Can f 1 – Can f 6, пригодной для использования в компонентных диагностических системах. Полученные автором протоколы обеспечивают высокую степень очистки, структурную воспроизводимость и функциональную активность белков, что делает возможным их применение в сертифицированных лабораторных тестах для определения индивидуального спектра сенсибилизации. Это значительно повышает точность диагностики и позволяет избежать ложноположительных результатов, характерных для экстрактных форм.

Особую ценность представляют данные о сравнительной аллергенной активности компонентов Can f 1, Can f 4 и Can f 5, которые, как показано в работе, играют ведущую роль в формировании клинических проявлений у большинства пациентов. Эти молекулы могут рассматриваться как ключевые кандидаты для создания рекомбинантных белков для аллерген-специфической иммунотерапии и разработки новых типов аллерговакцин с высокой эффективностью и минимальной перекрестной реактивностью.

Результаты исследования также обладают технологическим потенциалом: они формируют основу для создания отечественных решений в области молекулярной аллергологии, включая диагностические панели, лабораторные наборы и терапевтические препараты.

Соответствие паспорту научной специальности

Направление диссертационного исследования Козлова Евгения Максимовича соответствует пунктам соответствует п. 1 «Фундаментальные исследования, посвященные изучению строения и функционирования иммунной системы, её онто- и филогенеза», п. 2 «Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии», п. 5 «Изучение патогенеза иммуноопосредованных заболеваний (аллергии, первичные и вторичные иммунодефициты, аутоиммунные болезни)», п. 6 «Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов», п. 7 «Разработка способов воздействия на иммунную систему с помощью фармакологических препаратов и методов иммунобиотерапии» Паспорта специальности 3.2.7. Иммунология (медицинские науки).

Полнота освещения результатов диссертации в опубликованных работах

По результатам исследования автором опубликовано 10 работ, в том числе 2 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на

соискание ученой степени кандидата наук, 1 статья в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, 4 иных публикаций по результатам исследования, 1 патент, 2 публикации в сборниках материалов всероссийских научных конференций.

Содержание и оформление диссертации

Диссертационная работа Козлова Евгения Максимовича изложена на 120 страницах и включает все обязательные разделы, соответствующие требованиям к квалификационным научным трудам: введение, четыре содержательные главы, заключение, выводы, практические рекомендации и перечень использованной литературы. Иллюстративный материал представлен в виде 26 рисунков и 14 таблиц, что позволяет усилить наглядность и обоснованность излагаемых положений.

Во введении автор чётко формулирует цель исследования, конкретизирует задачи, обосновывает актуальность, новизну, теоретическое и прикладное значение работы, а также обозначает ключевые положения, подлежащие защите. Структурная логика введения выдержана в соответствии с научными стандартами.

Первый раздел содержит обстоятельный обзор современной научной литературы, касающейся эпидемиологии аллергии на собак, молекулярных механизмов сенсibilизации, особенностей строения и биологической активности аллергенов Can f 1 – Can f 6. Освещаются принципы врождённого и адаптивного иммунного ответа, классификация аллергенов и современные технологии компонентной диагностики. Анализ литературы выполнен на высоком уровне, с критической оценкой и грамотным отбором источников.

Вторая глава посвящена методическим аспектам. Подробно представлены используемые материалы, описаны этапы молекулярного клонирования, экспрессии и очистки рекомбинантных белков, а также методы оценки их структурных и функциональных свойств. Включены сведения об используемом оборудовании, условиях проведения анализа дегрануляции базофилов и методике проводимых иммунологических анализов. Уровень описания методик позволяет обеспечить их воспроизводимость.

В третьем разделе автор представляет основные экспериментальные данные: характеристики рекомбинантных белков, оценку их аллергенной активности и реактивности с сыворотками пациентов. Особое внимание уделено разработке отечественного варианта Can f 5 без перекрёстно-реактивных гликозилированных участков, что повышает точность IgE-диагностики. Доказана клиническая значимость отдельных компонентов, в частности Can f 1, Can f 4 и Can f 5, с учётом частоты сенсibilизации и интенсивности специфического IgE-ответа

Четвёртая глава содержит интерпретацию результатов с позиции современных знаний в области молекулярной аллергологии. Автору удаётся обоснованно сопоставить полученные данные с литературными сведениями,

подчеркнуть диагностическую ценность выявленных профилей сенсibilизации и аргументировать преимущества молекулярного подхода перед экстрактной диагностикой.

Выводы и практические рекомендации логично соотносятся с целями исследования, оформлены в соответствии с академическими требованиями и подкреплены фактическими результатами. Оформление диссертации аккуратное, структура работы выстроена последовательно, язык изложения ясен и научно выдержан, что свидетельствует о высоком уровне подготовки соискателя.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат диссертации Козлова Евгения Максимовича в полном объёме отражает структуру, содержание и основные результаты выполненного исследования. Все ключевые элементы — цель и задачи работы, научная новизна, методологические подходы, основные положения, выносимые на защиту, а также выводы и практические рекомендации — изложены в автореферате корректно и последовательно.

Текст автореферата подготовлен в соответствии с установленными требованиями и представляет собой сжатое, но информативное изложение диссертации. Содержание реферата адекватно отражает объём и глубину проведённой работы, что позволяет судить о её значимости без необходимости обращения к полному тексту.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертация Козлова Е.М. оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к подобного рода работам, содержание ее отличает инновационность научной разработки и перспективность в дальнейшем широком практическом применении, что безусловно можно отнести к достоинствам.

Содержащиеся в диссертации стилистические ошибки, несогласования, терминологические неточности не умаляют достоинств работы.

В плане дискуссии, хотела бы задать вопрос: Стоит ли рекомендовать всем пациентам с аллергией на собак изучать IgE- ответ к каждому из компонентов аллергенов собак или стоит выделять отдельные клинические случаи с какими-либо особыми характеристиками?

Заключение

Диссертационная работа Козлова Евгения Максимовича на тему «Оценка профиля сенсibilизации к молекулярным аллергенам Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 4, Can f 5, Can f 6 у пациентов с аллергией на собаку» представляет собой завершённое и самостоятельное научное исследование. В работе решена важная

научно-практическая задача, заключающаяся в комплексной оценке сенсibilизации к отдельным молекулярным компонентам эпидермальных аллергенов собак и обосновании их значимости для диагностики и персонализированной терапии аллергических заболеваний.

Результаты, полученные автором, подтверждаются экспериментальными данными, отличаются новизной и высокой степенью достоверности. Они имеют существенное значение для развития таких направлений, как молекулярная аллергология и клиническая иммунология, а также обладают прикладным потенциалом для внедрения в клиническую практику.

Таким образом, диссертационная работа Козлова Евгения Максимовича на тему: «Оценка профиля сенсibilизации к молекулярным аллергенам Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 4, Can f 5, Can f 6 у пациентов с аллергией на собаку» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи — определение профиля сенсibilизации к ключевым молекулярным аллергенам собак и оценка их диагностической и клинической значимости для повышения точности компонентной аллергодиагностики и научного обоснования для перехода к персонализированным подходам аллерген-специфической иммунотерапии, что имеет важное значение для развития современной иммунологии и соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023г., приказом №0787/Р от 24.05.2024г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Козлов Евгений Максимович заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности – 3.2.7. Иммунология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Заведующая отделением бронхиальной астмы

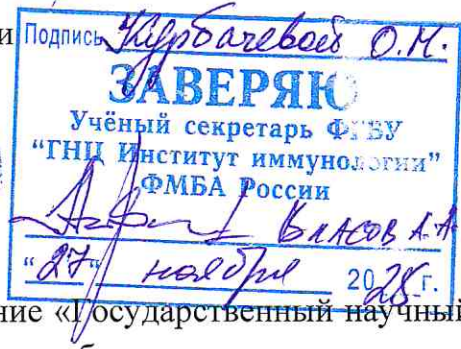
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России

доктор медицинских наук, профессор

Дата «27» 11 2025 г.

О.М. Курбачева

О.М. Курбачева
(3.1.27.)



Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России, заведующая отделением бронхиальной астмы, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24, e-mail: <http://nrcii.ru>, рабочий телефон: 8 (499) 311-67-78.