

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук
Афанасьевой Ольги Ивановны на диссертационную работу Оспельниковой
Татьяны Петровны «Система интерферонов при респираторно-вирусной,
аллергической и аутоиммунной патологии и пути коррекции нарушений»,
представленной на соискание учёной степени доктора медицинских наук по
специальностям
3.2.7. Иммунология
1.5.10. Вирусология

Актуальность темы диссертации

Актуальность исследований системы интерферонов при иммунозависимых заболеваниях обусловлена необходимостью персонализированного подхода к профилактике, диагностике и лечению. Мультиплексный анализ цитокинов на уровне транскрипции РНК, трансляции белков, посттрансляционной модификации и секреции доказал сложную саморегулируемую и устойчивую систему врожденного иммунитета. Определение референтных интервалов и референсных значений интерферонов трех типов должны основываться на статистическом анализе клинических образцов от условно здоровых добровольцев для сравнения показателей при различных иммунозависимых заболеваниях, включая инфекционные, аллергические и аутоиммунные. Докторская диссертация Оспельниковой Т.П. посвящена всестороннему анализу особенностей системы интерферонов (ИФН) при разных заболеваниях, перечисленных в работе. Диссертационная работа основана на разработке и комплексном применении методов вирусологии, молекулярной биологии и иммунологии для оценки интерферонового статуса пациентов с иммунными патологическими состояниями, что позволяет внедрить персонализированный подход к лечению и подтверждает актуальность работы на современном этапе.

Необходимо отметить, что в настоящее время большинство исследований системы интерферонов включают или молекулярно-генетические методы обратной транскрипции с ПЦР и определением

нуклеотидных последовательностей продуктов реакций, или иммунологические исследования антигенов и антител методами иммуноферментного или мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа с использованием магнитных микросфер.

Уникальность данной работы состоит в использовании методов молекулярной биологии, иммунологии и вирусологии для определения противовирусной активности интерферонов.

Метод определения противовирусной активности интерферонов был оптимизирован. Применение бессывороточной среды позволило исключить вариабельность результатов и получить статистически достоверные воспроизводимые отличия в группах здоровых людей и при иммунозависимых патологиях, а также в результате иммунокоррекции.

К тому же, был разработан метод определения нейтрализующих антител против препаратов интерферона-бета, позволяющий подтвердить резистентность к лечению пациентов с рассеянным склерозом и осуществить выбор альтернативного лечения.

Таким образом, исследование системы интерферонов и коррекция нарушений при разных формах иммунозависимых заболеваний имеет не только важное научное, но и не менее важное практическое значение.

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

В диссертационной работе Оспельниковой Т.П. применен комплексный подход к изучению системы ИФН у здоровых добровольцев и выявлению нарушений показателей ИФН при разных заболеваниях. Использован широкий спектр современных методов молекулярно-биологических, иммунологических и вирусологических исследований: метод обратной транскрипции с последующей ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ), метод иммуноферментного (ИФА) и иммунофлуоресцентного анализа (xMAP) для

определения белков ИФН и ключевых цитокинов, метод определения активности ИФН I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови человека (интерфероновый статус). Методический подход в совокупности, полученные результаты широкого спектра исследований клинического материала с предложенными информативными таблицами и графиками, выводы и практические рекомендации – всё это позволяет считать результаты диссертационной работы Оспельниковой Т.П. достоверными, научные положения - обоснованными.

Достоверность и новизна полученных результатов, выводов и рекомендаций

Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным объемом клинического материала, применением комплекса методических подходов, а также обработкой полученных результатов общепринятыми методами вариационной статистики. Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне.

Получены новые данные по исследуемой проблеме, что определяет новизну результатов исследования. Разработаны методы для комплексного исследования системы ИФН: усовершенствованный метод определения активности ИФН (интерфероновый статус); метод обратной транскрипции с последующей ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ); метод определения нейтрализующих антител к длительно применяемому препарату ИФН. Комплексный методический подход позволил выявить особенности системы ИФН при аллергических и аутоиммунных заболеваниях, респираторных вирусных инфекциях, включая новую коронавирусную инфекцию - заболевание COVID-19. Автором обоснована важность комплексного исследования системы ИФН при иммунозависимых заболеваниях для выявления нарушений в системе ИФН с научно обоснованным подходом к иммунокоррекции. Научная новизна работы подтверждена 3 патентами

Российской Федерации.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Диссертационная работа изучения особенностей системы ИФН вносит определенный вклад в расширение представлений об иммунопатогенезе иммунозависимых заболеваний. С помощью использованных разработанных диссертантом методик выявлены нарушения системы ИФН при респираторно-вирусных, аллергических и аутоиммунных заболеваниях, что имеет большое практическое значение.

Был предложен усовершенствованный оптимизированный метод определения противовирусной активности ИФН, продуцируемых лейкоцитами крови (интерфероновый статус) у иммунокомпрометированных людей с различными по этиопатогенезу иммунозависимыми заболеваниями, что обуславливает персонализированный подход к терапии. Был разработан метод определения нейтрализующих антител против длительно применяемого препарата ИФН- β у пациентов с рассеянным склерозом с обоснованной возможностью отмены терапии при резистентности к применяемому лечению. Предложены подходы к применению иммуноактивных препаратов (интерфероны, индукторы ИФН, иммуномодуляторы) при иммунозависимых заболеваниях различной этиологии.

Соответствие диссертационных исследований паспортам специальностей

Область диссертационной работы Оспельниковой Т.П. соответствует пунктам 5, 6 паспорта научной специальности 3.2.7. Иммунология (медицинские науки): п.5. изучение патогенеза иммуноопосредованных (аллергии, первичные и вторичные иммунодефициты, аутоиммунные болезни) и других заболеваний; п.6. разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных,

аллергических и других иммунопатологических процессов; пунктам 9, 10, 11 паспорта научной специальности 1.5.10. Вирусология (медицинские науки): п.9. возбудители вирусных инфекций человека; п.10. разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторной диагностики, терапии, и иммунопрофилактики вирусных инфекций; п.11. противовирусные препараты. Интерфероны и индукторы интерферона: изучение механизма действия, получение и применение.

Полнота освещения результатов диссертации и опубликованные работы

По результатам диссертационного исследования автором опубликовано 36 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора наук, 10 статей в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, Chemical Abstracts, Springer, 12 иных публикаций по результатам исследования, 1 монография, 3 патента РФ, а также 8 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференциях. Результаты диссертации представлены на всероссийских и международных конференциях.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности

Диссертация изложена на 259 страницах компьютерного текста и состоит из введения и 3 глав, включающих обзор литературы (глава 1), методы исследования (глава 2), и основная часть работы, которая состоит из главы результатов собственных исследований и обсуждения (глава 3), а также заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. В текст диссертации включены 40 рисунков, 38 таблиц, 3 приложения. Список

литературы содержит 676 источников, в том числе 198 отечественных публикаций и 478 – зарубежных авторов.

Во «Введении» отражены актуальность темы и степень её разработанности, цели работы, задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту, внедрение результатов исследования, степень достоверности, публикации.

«Обзор литературы» включает подробное описание системы ИФН: история открытия, роль ИФН при разных патологиях, роль респираторных вирусов (грипп H1N1, H3N2, COVID-19, аденовирус, респираторно-синтициальный вирус) при аллергических заболеваниях; особенности ИФН при аутоиммунных заболеваниях; респираторно-вирусных инфекциях; примененные в данной работе иммуноактивные препараты. Литературный материал снабжён рисунками высокого качества.

В главе «Материалы и методы» имеется подробное описание использованного клинического материала в различных иммунологических, вирусологических и молекулярно-биологических методах, при наличии разрешения на проведение подобных работ Этическим Комитетом. Используемые в данной работе *in vitro* вирусы болезни Ньюкасла, везикулярного стоматита, энцефаломиокардита мышей имели 3 и 4 группы патогенности, поэтому исследовательские работы были проведены в боксах биологической безопасности.

Глава «Результаты и обсуждение» состоит из 5 подглав собственных исследований, посвящённых комплексному исследованию системы ИФН человека в норме и при патологии. Диссертант с соавторами разработали и оптимизировали методику по оптимизации детекции РНК ИФН 3-х типов методом обратной транскрипции с последующей ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ). И

этот метод, предложенный Оспельниковой Т.П., явился необходимой частью комплексной оценки системы ИФН при различных иммунозависимых заболеваниях.

Кроме того, Оспельникова Т.П. с соавторами оптимизировали метод определения активности ИФН («интерфероновый статус»), который позволил автору количественно оценить функциональную способность ИФН, продуцируемых лейкоцитами крови *in vitro*, позволяя оценить противовирусный потенциал организма: основные количественные параметры в титрах биологической активности (ТБА): циркулирующий (сывороточный) ИФН в сыворотке крови; активность ИФН I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при стимуляции их вирусом болезни Ньюкасла и фитогемагглютинином, соответственно.

Ещё одним важным звеном в работе Оспельниковой Т.П. явилась разработка количественного культурально-вирусологического метода определения нейтрализующих антител к препаратам ИФН- β -1b или ИФН- β -1a в сыворотке крови пациентов с тяжелым аутоиммунным заболеванием рассеянный склероз. И важно отметить, что именно этот метод определения нейтрализующих антител к конкретному препарату ИФН- β может помочь своевременно оценить эффективность лечения применяемого пациентом препарата ИФН- β и подтвердить возможную резистентность к терапии.

Важно отметить и то, что Т.П. Оспельниковой на биоматериале здоровых взрослых получены количественные показатели экспрессии генов, белков и противовирусной активности ИФН всех 3-х типов, которые можно использовать как физиологический стандарт при исследовании различных патологий. Кроме того, эти исследования были дополнены результатами исследования системы ИФН при иммунозависимых заболеваниях с анализом экспрессии генов ИФН, синтеза белков ИФН и оценки биологической активности ИФН, полученных при респираторно-вирусных инфекциях, аллергических и аутоиммунных заболеваниях, наглядно

продемонстрированные в таблицах и рисунках. Дефицит функциональной активности ИФН, продуцируемых лейкоцитами крови, предполагает дальнейшую иммунокоррекцию. Важным разделом работы Т.П. Оспельниковой показана иммунокоррекция выявленных нарушений системы ИФН при иммунозависимых заболеваниях. Одним из перспективных направлений комплексной терапии является, по мнению автора, иммунокоррекция препаратами индукторов эндогенного ИФН (циклоферон, кагоцел), иммуномодуляторов (ингавирин, Иммуновак-ВП-4 и др.), клиническая эффективность которых на фоне рациональной базисной терапии отражена в графиках и таблицах.

В разделе «Заключение» Т.П. Оспельникова оценила полученные результаты исследований, кратко суммируя основные результаты всей работы. Раздел «Выводы» соответствует полученным результатам. Диссертация представляет законченное научное исследование и соответствует паспортам научных специальностей 3.2.7. «Иммунология» и 1.5.10 «Вирусология».

Соответствие автореферата диссертации основным положениям диссертации

Автореферат соответствует содержанию диссертационной работы Оспельниковой Т.П., основным положениям, заключению, выводам.

Замечания по содержанию и оформлению диссертационной работы

Несомненным достоинством представленной работы является применение комплекса методов вирусологии, иммунологии и молекулярной биологии для анализа системы интерферонов человека в норме и при иммунозависимых заболеваниях. Сравнение показателей интерферонов при острых респираторных вирусных инфекциях, при аллергических и аутоиммунных заболеваниях позволило выявить закономерности функционирования системы врожденного иммунитета и возможности

терапевтической коррекции.

Принципиальных замечаний к диссертации нет. Стилистические и орфографические недостатки не снижают значимость диссертационного исследования.

Заключение

Таким образом, диссертация Оспельниковой Т.П. на тему: «Система интерферонов при респираторно-вирусной, аллергической и аутоиммунной патологиях и пути коррекции нарушений», представленная к защите на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальностям 3.2.7. Иммунология (медицинские науки) и 1.5.10. Вирусология (медицинские науки) является законченной научно-квалификационной работой с решением научной проблемы, а именно: использованием результатов комплексного методического подхода к выявлению нарушений системы ИФН при иммунозависимых заболеваниях с дальнейшим применением иммуноактивных препаратов (интерфероны, индукторы ИФН, иммуномодуляторы) в персонализированной корригирующей терапии, внедрение которой вносит значительный вклад в здоровьесбережение населения, в развитие клинической медицины, в том числе фундаментальной и прикладной иммунологии и вирусологии.

По актуальности, степени научной новизны, теоретической и практической значимости, диссертационная работа соответствует требованиям п. 15 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 докторским диссертациям, а ее автор Оспельникова

Татьяна Петровна заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальностям – 3.2.7. Иммунология и 1.5.10. Вирусология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук
(14.01.09 –инфекционные болезни) (3.1.22),
заведующий отделением респираторных
вирусных инфекций у детей
ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»
Минздрава России,
Санкт-Петербург, Российская Федерация



Ольга Ивановна Афанасьева

Подпись д.м.н. Афанасьевой О.И. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НИИ
гриппа им. А.А. Смородинцева»
Минздрава России, к.м.н.



Т.Г. Лобова

« 07 » _____ ноября _____ 2025 года

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 15/17; телефон: +7 (812) 499-15-00; e-mail: office@influenza.spb.ru, сайт: <https://www.influenza.spb.ru/>