

## УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-технологическому  
развитию ФГАОУ ВО Первый МГМУ  
им. И.М. Сеченова Минздрава России  
(Сеченовский Университет)  
доктор фармацевтических наук, доцент

В.В. Тарасов

2025 г.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### **ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)**

на основании решения заседания кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Диссертация «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 выполнена на кафедре клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Козлов Евгений Максимович, 1997 года рождения, гражданство Российская Федерация, окончил ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский Университет) в 2021 году по специальности «Медицинская биохимия».

В 2021 году зачислен в число аспирантов 1-го курса на очную форму обучения по основной профессиональной образовательной программе высшего образования - программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по специальности 3.2.7. Иммунология. Отчислен из аспирантуры в 2024 году в связи с окончанием обучения.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 2154/Ао выдана в ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

С 2024 года работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории иммунопатологии Института молекулярной медицины Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по настоящее время.

**Научный руководитель:** Караулов Александр Викторович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Оценка профиля сенсибилизации 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», представленного на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология, принято следующее заключение:

- **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертационная работа Козлова Евгения Максимовича на тему «Оценка профиля сенсибилизации 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, актуальное и научно обоснованное исследование. Работа посвящена решению важной задачи современной клинической иммунологии и аллергологии — совершенствованию диагностики аллергии на собак посредством молекулярного анализа сенсibilизации. В ходе исследования впервые в России проведена комплексная оценка сенсibilизации к полной панели молекулярных аллергенов собак, разработаны протоколы получения рекомбинантных белков в растворимой форме, детально охарактеризованы их молекулярные и аллергенные свойства, а также установлены клинически значимые аллергены для диагностики и терапии. Структура диссертации, постановка целей и задач, применённые методы исследования и глубина анализа полученных данных соответствуют современным требованиям.

Соискателем продемонстрирован высокий уровень самостоятельности на всех этапах выполнения работы — от формулирования научной гипотезы и выбора методов исследования до интерпретации полученных результатов и их практической апробации. Проведённые исследования отличаются новизной, высокой степенью научной достоверности и практической значимостью, а их результаты имеют широкие перспективы применения в диагностике и терапии аллергических заболеваний. Диссертация отвечает требованиям, предъявляемым к работам на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

- **Актуальность темы диссертационного исследования**

Актуальность диссертационного исследования Козлова Евгения Максимовича обусловлена возрастающей распространённостью аллергии на собак в популяции и необходимостью совершенствования методов её диагностики. Аллергены собак являются значимым фактором развития аллергических заболеваний, при этом классические методы диагностики, основанные на использовании аллергенных экстрактов, характеризуются высокой вариабельностью представленности аллергенов в составе экстрактов и высоким риском кросс-реактивности, что снижает специфичность

и чувствительность тестов. Современные подходы молекулярной аллергологии позволяют проводить компонентную диагностику сенсибилизации, выявляя специфические антитела к молекулярным аллергенам, ассоциированные с клиническими проявлениями заболевания.

Проведение комплексной оценки профиля сенсибилизации к основным молекулярным аллергенам собак Can f 1 – Can f 6, а также изучение их индивидуальной аллергенной активности, представляют собой актуальную научную задачу, направленную на повышение точности диагностики, улучшение стратификации пациентов и развитие персонализированных подходов к аллерген-специфической иммунотерапии. Результаты исследования имеют важное значение для практической аллергологии и расширяют фундаментальные представления о патогенезе аллергии на эпидермальные аллергены.

- **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Автор диссертационного исследования принимал непосредственное и активное участие на всех этапах выполнения научной работы. Соискателем самостоятельно был разработан детальный план исследования, сформулированы цели и задачи работы, проведён всесторонний анализ литературных данных, обосновывающих необходимость исследования профиля сенсибилизации к молекулярным аллергенам собак.

Козлов Е.М. самостоятельно осуществил весь цикл лабораторной работы, включая разработку и оптимизацию протоколов получения рекомбинантных белков. Им были проведены этапы клонирования, трансформации и экспрессии рекомбинантных аллергенов Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 5 и Can f 6 в клетках *Escherichia coli*. Автор лично выполнил очистку белков, верифицировал их структуру с использованием методов ПААГ-электрофореза, вестерн-блоттинга и масс-спектрометрии, а также биотинилировал рекомбинантные аллергены для последующих иммунологических тестов. Соискатель самостоятельно выполнил оценку аллергенной активности молекул методом анализа дегрануляции

базофилов, а также провёл исследования IgE-реактивности пациентов методом ImmunoCAP. Все этапы статистической обработки полученных данных, интерпретация результатов, подготовка публикаций и написание диссертации также выполнены лично автором. Таким образом, вклад Козлова Е.М. в реализацию исследования является определяющим и полным.

- **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Достоверность результатов подтверждается использованием современных методологических и экспериментальных подходов, соответствующие целям работы. Для получения и характеристики рекомбинантных аллергенов Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 5 и Can f 6 применялись апробированные молекулярно-биологические методы: гетерологическая экспрессия белков в системе *Escherichia coli*, подтверждённая электрофорезом в ПААГ, масс-спектрометрическим анализом и спектроскопией кругового дихроизма, что позволило убедиться в правильной пространственной структуре и чистоте белков.

Аллергенная активность рекомбинантных белков определялась с использованием теста дегрануляции базофилов, обеспечивающего количественную оценку их биологической активности и сопоставимость с нативными аллергенами. Полученные данные сопоставлялись с результатами кожных аллергопроб и клиническими данными пациентов, что обеспечило верификацию результатов и соответствие клинической значимости сенсibilизации.

Для оценки IgE-реактивности использовался валидированный метод ImmunoCAP, что позволило провести количественное определение специфических антител и обеспечить сопоставимость результатов с данными международных исследований. Включение контрольных сывороток здоровых доноров и пациентов без аллергии на собак позволило снизить вероятность получения ложноположительных результатов.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного обеспечения GraphPad Prism и Python, включая корреляционный

анализ, определение статистической значимости различий и построение дозозависимых кривых дегрануляции. Апробация результатов проведена на профильных научных конференциях и в рамках экспертного обсуждения на кафедре иммунопатологии, что дополнительно подтверждает надёжность полученных данных.

- **Научная новизна результатов проведенных исследований**

В диссертационной работе Е.М. Козлова проведено комплексное исследование сенсibilизации пациентов с аллергией на собак к полной панели молекулярных аллергенов Can f 1 – Can f 6. Впервые в России определены индивидуальные профили IgE-сенсibilизации к каждому аллергену с помощью метода ImmunoCAP, что позволило установить, что Can f 1, Can f 4 и Can f 5 являются наиболее значимыми аллергенами для диагностики.

Были разработаны и оптимизированы протоколы получения рекомбинантных форм аллергенов Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 5 и Can f 6 в растворимой форме в системе *Escherichia coli* с сохранением нативной пространственной структуры. В результате проведенной работы получен рекомбинантный Can f 5 без включения кросс-реактивных углеводных детерминант, что обеспечивает высокую специфичность диагностики.

Научная новизна подтверждается исследованием не только IgE-связывающей активности к наиболее распространенным аллергенам собаки, но и также оценке аллергенной активности рекомбинантных аллергенов Can f 1 – Can f 6 с использованием клеточной модели базофильного лейкоза. Установлено, что Can f 1, Can f 4 и Can f 5 вызывают наиболее выраженную дегрануляцию, что подтверждает их высокую аллергенную активность и потенциальную роль как основных мишеней для аллерген-специфической диагностики и иммунотерапии.

Впервые проведено сопоставление уровней специфических IgE к рекомбинантным аллергенам с уровнем IgE к экстракту собаки, выявлена высокая корреляция ( $R = 0,86$ ), что доказывает возможность использования панели Can f 1 – Can f 6 в качестве альтернативы экстракту для диагностики.

Отмечено, что рекомбинантный Can f 5 является специфическим маркером истинной сенсibilизации к собаке, так как не демонстрирует кросс-реактивности с липокалинами других видов животных, что впервые установлено для российской популяции.

Таким образом, работа Е.М. Козлова представляет собой комплексное исследование сенсibilизации к молекулярным аллергенам собак, включающее получение и характеристику рекомбинантных аллергенов, изучение их аллергенной активности и сопоставление профиля сенсibilизации с аллергенным экстрактом собаки. Результаты исследования открывают новые перспективы для разработки более специфичных диагностических тестов и таргетной аллерген-специфической иммунотерапии аллергии на собак.

- **Практическая значимость проведенных исследований**

Практическая значимость диссертационной работы Козлова Евгения Максимовича заключается в разработке и внедрении новых эффективных подходов к диагностике аллергии на собак на основе использования панели молекулярных аллергенов Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 4, Can f 5 и Can f 6.

Полученные автором рекомбинантные аллергены в растворимой форме, сохраняющие нативную структуру и аллергенную активность, позволяют существенно повысить точность диагностики сенсibilизации у пациентов, минимизируя риск ложноположительных результатов, характерных для тестов на аллергенные экстракты. Использование разработанной панели молекулярных аллергенов дает возможность дифференцировать истинную сенсibilизацию к собакам от перекрестной аллергии к другим эпидермальным аллергенам, что особенно важно при выборе тактики лечения и аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ).

Определение индивидуальных профилей сенсibilизации пациентов с использованием молекулярных аллергенов позволяет проводить более точную стратификацию риска развития тяжелых аллергических реакций, прогнозировать течение заболевания и разрабатывать персонализированные схемы терапии. Выявление Can f 5 в качестве высокоспецифического маркера

истинной аллергии на собак даёт возможность использования данного аллергена для более точной верификации диагноза и отбора пациентов для молекулярной АСИТ.

Кроме того, внедрение результатов исследования в клиническую практику способствует повышению эффективности профилактических мероприятий и образовательных программ для пациентов с атопией. Разработка высокочувствительных и специфичных диагностических тестов на основе полученных рекомбинантных аллергенов создает предпосылки для снижения затрат на диагностику и лечение аллергии в здравоохранении.

Таким образом, практическая значимость работы заключается в повышении качества диагностики аллергии на собак, оптимизации лечебно-диагностических алгоритмов, а также в создании научной базы для дальнейшего развития молекулярных методов терапии аллергических заболеваний.

- **Ценность научных работ соискателя ученой степени**

Научные работы Козлова Евгения Максимовича обладают высокой ценностью и значительным вкладом в развитие молекулярной аллергологии и клинической иммунологии. Они отражают комплексное и всестороннее изучение профиля сенсибилизации к молекулярным аллергенам собак, создавая прочную научную и методологическую основу для совершенствования диагностики и терапии аллергических заболеваний. Научные результаты, полученные автором, достаточно полно представлены в его публикациях в рецензируемых журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ, перечень Сеченовского Университета и индексируемых в Web of Science, Scopus и PubMed. Особо значимой является статья Козлова Е.М. в журнале *Allergy* — одном из ведущих мировых журналов в области аллергологии с импакт-фактором более 12 — «Recombinant IgE-Reactive Functional Can f 5 Devoid of Cross-Reactive Carbohydrate Determinants». В данной публикации впервые представлен рекомбинантный вариант аллергена Can f 5, лишённый перекрёстно-реактивных углеводных детерминант (CCD), что имеет

важное значение для повышения специфичности молекулярной диагностики аллергии на собак. Работа получила высокую оценку в международном научном сообществе и является одним из ключевых научных достижений диссертационного исследования.

- **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Козлова Евгения Максимовича на тему «Оценка профиля сенсибилизации 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» внедрены в учебный процесс кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин «Аллергология» и «Клиническая иммунология» (акт № 643 от 21.05.2025).

- **Этическая экспертиза научного исследования в Локальном этическом комитете (по медицинским и фармацевтическим наукам)**

Исследование было одобрено на заседании Локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Протокол № 04-22 от 16.02.2022.

- **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

Направление диссертационного исследования 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 изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

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.

Оригинальные научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Университета / ВАК при Минобрнауки России:

1) Молекулярный профиль сенсibilизации к аллергенам собаки: диагностика с использованием «АллергочипРФ» / Е. М. Козлов, Д. Р. Трифонова, К. А. Рябова [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2025. – № 1. – С. 59-67. – DOI: 10.14427/jipai.2025.1.59.

2) Оценка уровней специфических IgE к мажорным аллергенам Fel d 1 и Can f 1 с применением диагностических платформ «АллергочипРФ» и ImmunoCAP / Е. М. Козлов, Д. Р. Трифонова, К. А. Рябова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2025. – № 180(7). – С. 76-80. – DOI: 10.47056/0365-2025-180-7-76-80.

Научные статьи в журналах, включенных в международные, индексируемые базы данных Web of Science, Scopus, PubMed:

1) Recombinant IgE-Reactive Functional Can f 5 Devoid of Cross-Reactive Carbohydrate Determinants / E. Kozlov, D. Trifonova, A. Dubovets [et al.] // Allergy. – 2025. – Vol. 80. – № 6. – P. 1785-1789. – DOI: 10.1111/all.16465.

Иные публикации, опубликованные по теме диссертационного исследования:

1) Albumins represent highly cross-reactive animal allergens / Z. Liu, D. Trifonova, E. Kozlov [et al.] // Front Immunol. – 2023. – № 14. – P. 1241518. – DOI: 10.3389/ fimmu.2023.

2) Аллергочипы в молекулярной диагностике: от когортной оценки к персонализированному ведению пациента / К. А. Рябова, Е. М. Козлов, Д. Р. Трифонова [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2025. – № 24(1). – С. 10-26. – DOI: 10.17650/1726-9784-2025-24-1-10-26.

3) Современная концепция молекулярной диагностики аллергии на собак / Е. М. Козлов, А. А. Дубовец, К. А. Рябова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – № 175(6). – С. 664-669. – DOI: 10.47056/0365-9615-2023-175-6-664-669.

4) Характеристика аллергенов кошки / Е. М. Козлов, К. А. Рябова, Д. Р. Трифонова, [и др.] // Иммунология. – 2023. – Т. 44. – № 3. – С. 368-378. – DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-3-368-378.

Патенты:

1) Патент № 2845385 С1 Российская Федерация, МПК С07К 14/47, G01N 33/68, А61К 39/35. Рекомбинантный аллерген Can f 5, полученный в клетках E.coli : № 2024113523: заявл. 20.05.2024 : опубл. 18.08.2025 / Е. М. Козлов, Д. Р. Трифонова, Н. В. Гороховец [и др.]; Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 19 с.

Материалы конференций по теме диссертационного исследования:

1) Получение панели молекулярных аллергенов собак Can f 1 – Can f 6 с целью создания продвинутого диагностического метода выявления аллергии на собак / Е. М. Козлов, А. Р. Галашин, К. А. Рябова [и др.] // Первый межрегиональный конгресс по аллергологии и иммунологии: СБОРНИК

ТЕЗИСОВ, Москва, 9 октября 2023 года. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью «СМАРТ», 2023. – С. 23-24. – EDN ZPHMOP.

2) Сравнение данных по использованию аллергочипов в практике для оценки профиля сенсибилизации в когортах / А. Р. Галашин, К. А. Рябова, Е.М. Козлов [и др.] // Первый межрегиональный конгресс по аллергологии и иммунологии: СБОРНИК ТЕЗИСОВ, Москва, 9 октября 2023 года. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью «СМАРТ», 2023. – С. 12. – EDN JGQIVN.

**Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:**

1) Первый Межрегиональный конгресс по аллергологии и иммунологии с международным участием (Москва, 2023).

2) Первый Межрегиональный конгресс по аллергологии и иммунологии с международным участием (Москва, 2024).

3) Конференция LIFT 2025: Exploring Brain, Expanding Future с международным участием (Таруса, 2025).

4) 19-й Конгресс Международного союза иммунобиологических обществ (IUIS) (Вена, 2025).

### **Заключение**

Диссертация соответствует требованиям п. 21 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом от 06.06.2022 № 0692/Р, и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Козлова Евгения Максимовича «Оценка профиля сенсибилизации 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» рекомендуется к защите на

соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности  
3.2.7. Иммунология.

Заключение принято на заседании кафедры клинической иммунологии и  
аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского  
ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет  
имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Присутствовало на заседании 9 человек.

Результаты голосования: «за» – 9 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось»  
– 0 чел., протокол № 9 от «9» сентября 2025 г.

**Председательствующий на заседании**

доктор медицинских наук, профессор,  
профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии  
Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского  
ФГАОУ ВО Первый МГМУ  
им. И.М. Сеченова Минздрава России  
(Сеченовский Университет)



О.В. Калюжин