

ОТЗЫВ

официального оппонента Пампуры Александра Николаевича, доктора медицинских наук, заместителя директора по научной работе Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова МЗ РФ 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 актуальной проблеме иммунологии – изучению профиля сенсibilизации к молекулярным аллергенам собак у пациентов с аллергией на собаку.

Актуальность темы определяется высокой распространённостью эпидермальной аллергии, ростом числа аллергических заболеваний во всём мире и необходимостью совершенствования существующих методов диагностики и терапии. Аллергия на собак является одной из ведущих причин сенсibilизации к бытовым аллергенам и может приводить к развитию бронхиальной астмы, аллергического ринита и атопического дерматита.

Традиционные методы диагностики, основанные на экстрактах аллергенов, обладают ограниченной специфичностью из-за их гетерогенности и перекрёстной реактивности. В этой связи использование рекомбинантных молекулярных аллергенов и компонентной диагностики представляет собой перспективное направление, позволяющее повысить точность выявления истинной сенсibilизации и оптимизировать выбор аллерген-специфической иммунотерапии.

Разработка отечественной панели рекомбинантных аллергенов собак и оценка её диагностической значимости имеют важное научное и практическое

значение для совершенствования аллергологической помощи в Российской Федерации. В целом проведённое исследование отличается высокой степенью актуальности, соответствует современным направлениям развития молекулярной аллергологии и отвечает приоритетным задачам здравоохранения Российской Федерации, направленным на повышение точности диагностики и эффективности лечения аллергических заболеваний.

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

Научные положения, выводы и практические рекомендации, представленные в диссертации Козлова Евгения Максимовича, являются логически последовательными и аргументированными. Они вытекают из результатов проведённого исследования и подтверждаются совокупностью полученных экспериментальных данных.

Автор применил современные методы молекулярной биологии, иммунологии и биохимии, адекватные поставленным задачам. В исследовании были использованы контрольные эксперименты, воспроизводимые протоколы и надлежащая статистическая обработка результатов, которая обеспечивает высокую достоверность полученных данных.

Выводы диссертации согласуются с основными положениями работы, не выходят за рамки фактического материала и подтверждаются экспериментальными наблюдениями. Практические рекомендации основаны на объективных результатах и обладают прикладной значимостью для совершенствования диагностики и терапии аллергии на собак.

Таким образом, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, следует признать высокой.

Достоверность и новизна результатов исследования, полученных результатов

Достоверность полученных данных подтверждается использованием комплекса взаимодополняющих методов молекулярной биологии, биохимии и иммунологии. В ходе исследования проведено конструирование экспрессионных векторов, экспрессия и очистка рекомбинантных белков Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 5 и Can f 6 в системе *E. coli*, их структурная верификация с применением электрофореза, вестерн-блоттинга и спектроскопии кругового дихроизма. Функциональная активность полученных аллергенов подтверждена анализом дегрануляции базофилов и определением IgE-реактивности сывороток пациентов методом ImmunoCAP.

Привлечение достаточной выборки клинических образцов, проведение повторных экспериментов и статистическая обработка результатов обеспечивают высокую степень надёжности и воспроизводимости полученных данных. Выводы исследования логично вытекают из экспериментальных наблюдений и подтверждаются количественными результатами.

Научная новизна работы заключается в разработке и оптимизации высокоэффективных протоколов получения полной панели молекулярных аллергенов собак Can f 1 – Can f 6 в растворимой форме. Впервые предложен метод экспрессии простатического калликреина Can f 5 в системе *E. coli* без включения перекрёстно-реактивных углеводных детерминант, что позволило получить антиген, обладающий нативной структурой и высокой специфичностью распознавания человеческими IgE.

Автором проведена комплексная оценка аллергенной активности молекул Can f 1 – Can f 6 на клеточной модели дегрануляции базофилов, что позволило установить наиболее клинически значимые компоненты: Can f 1, Can f 4 и Can f 5. Полученные данные дополняют существующие представления о патогенезе аллергии на собак и формируют научную основу для совершенствования компонентной диагностики и разработки новых подходов к аллерген-специфической иммунотерапии.

Таким образом, результаты исследования отличаются высокой степенью достоверности и обладают несомненной научной новизной, подтверждая самостоятельный и завершённый характер выполненной диссертационной работы.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты диссертационной работы Козлова Евгения Максимовича обладают существенной научной и практической значимостью. В научном отношении исследование вносит значимый вклад в развитие молекулярной аллергологии и иммунопатологии, углубляя понимание механизмов сенсibilизации к эпидермальным аллергенам собак и закономерностей формирования индивидуальных профилей IgE-реактивности. Полученные данные расширяют существующие представления о роли отдельных аллергенов Can f 1 – Can f 6 в патогенезе аллергии и создают основу для уточнения молекулярных маркеров истинной сенсibilизации.

Практическая значимость работы заключается в разработке и апробации отечественной панели рекомбинантных аллергенов собак, пригодной для использования в компонентной диагностике аллергических заболеваний. Созданные автором протоколы получения и верификации рекомбинантных белков Can f 1 – Can f 6 позволяют применять их для точного определения спектра сенсibilизации у пациентов, повышая специфичность лабораторных тестов и снижая вероятность ложноположительных результатов.

Результаты исследования имеют прикладное значение для совершенствования аллерген-специфической иммунотерапии: выявленные наиболее значимые молекулы (Can f 1, Can f 4 и Can f 5) могут служить основой для разработки новых форм терапевтических препаратов и перспективных аллерговакцин. Внедрение предложенных подходов способствует созданию национальной базы компонентной диагностики и развитию отечественных технологий в области молекулярной медицины.

Таким образом, полученные Козловым Е.М. результаты имеют высокую значимость как для фундаментальной науки, так и для клинической практики,

обеспечивая научную основу для дальнейшего совершенствования диагностики и терапии аллергических заболеваний.

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

Диссертация изложена на 120 страницах и включает введение, четыре главы (обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение), заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Работа содержит 26 рисунков и 14 таблиц, что делает материал наглядным и убедительным.

В введении чётко сформулированы цель и задачи исследования, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, приведены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен детальный обзор литературы, характеризующий современное состояние проблемы. Автор последовательно рассматривает эпидемиологию, патогенез и механизмы аллергических реакций, уделяя внимание роли врождённого и адаптивного иммунитета, классификации гиперчувствительности, особенностям аллергенов собак (Can f 1 – 6) и современным подходам к их диагностике. Литературный анализ демонстрирует глубокое понимание предмета исследования и умение критически сопоставлять различные источники.

Во второй главе приведены материалы и методы исследования. Автор подробно описывает дизайн исследования, используемые реактивы и оборудование, схемы конструирования экспрессионных векторов, экспрессию и очистку рекомбинантных белков в системе *E. coli*, методы оценки аллергенной активности (в том числе дегрануляцию базофилов и анализ ингибирования IgE). Описание экспериментов выполнено корректно, с указанием всех ключевых параметров, что обеспечивает возможность воспроизведения результатов.

В третьей главе изложены основные результаты. Автором разработаны и оптимизированы протоколы получения рекомбинантных аллергенов Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 5, Can f 6 в растворимой форме, охарактеризованы их физико-химические свойства и специфическая активность. Впервые предложен метод получения Can f 5 в системе *E. coli* без включения перекрёстно-реактивных углеводных детерминант, что позволило повысить специфичность диагностики. Особое внимание уделено анализу аллергенной активности с использованием клеточной линии базофилов крысы, экспрессирующей рецептор FcεRI.

Полученные данные свидетельствуют, что наиболее выраженной аллергенной активностью обладают Can f 1, Can f 4 и Can f 5.

В четвёртой главе проведено обсуждение результатов, сопоставленных с современными литературными данными. Автор убедительно показывает, что выявленные различия в профилях сенсибилизации позволяют дифференцировать истинную аллергическую реакцию на собак от кросс-реактивности с другими эпидермальными аллергенами.

Заключение, выводы и практические рекомендации логично вытекают из представленных данных и полностью соответствуют поставленным целям и задачам.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат в полной мере отражает основные положения, результаты диссертации, выводы и практические рекомендации и выполнен в соответствии с требованиями ВАК при Министерстве образования России.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Козлова Евгения Максимовича выполнена на высоком научно-методическом уровне и отличается логичной структурой, чёткой постановкой цели и задач, последовательностью изложения и убедительной аргументацией результатов. Автор грамотно применил современные методы молекулярной биологии, биохимии и иммунологии, обеспечив достоверность полученных данных. К достоинствам работы следует отнести комплексный подход, включающий получение и характеристику рекомбинантных аллергенов Can f 1 – Can f 6, анализ их аллергенной активности, а также практическую направленность исследования, ориентированную на совершенствование диагностики аллергических заболеваний. Диссертация хорошо оформлена, иллюстративный материал информативен и способствует восприятию данных.

Таблицы и рисунки подобраны удачно, статистическая обработка выполнена корректно, язык изложения ясен и выдержан в научном стиле.

Вместе с тем, в работе имеются отдельные замечания, не снижающие её научной ценности. Так, в разделе обзора литературы можно было бы шире осветить современные зарубежные исследования в области компонентной диагностики аллергии на собак и включить более развёрнутое сравнение полученных результатов с данными международных публикаций. В описании клинической части исследования следовало бы привести более подробные характеристики обследованных пациентов (возраст, пол, сопутствующая патология). Кроме того, в некоторых рисунках и таблицах встречаются незначительные различия в обозначениях и форматировании, которые целесообразно унифицировать.

Указанные замечания носят частный характер и не влияют на общую положительную оценку представленной работы, выполненной на высоком научном и методическом уровне.

Заключение

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» является завершённым научным исследованием, выполненным лично автором. Работа содержит новое решение актуальной научной задачи — изучение молекулярных механизмов сенсибилизации к аллергенам собак и определение их клинической значимости для совершенствования диагностики и терапии аллергических заболеваний. Полученные результаты обладают высокой степенью достоверности, научной новизной и имеют важное теоретическое и практическое значение для развития отечественной молекулярной аллергологии и клинической иммунологии.

Таким образом, 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» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является научно-квалификационной

работой, в которой содержится решение научной задачи – оценка профиля сенсibilизации к основным аллергенам собак и определение их диагностической и клинической значимости для совершенствования методов компонентной аллергодиагностики и разработки подходов к аллерген-специфической иммунотерапии, имеющая существенное значение для развития иммунологии, что 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:

А.Н. Пампура

Заместитель директора по научной работе

Научно-исследовательского клинического института

педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева

ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова МЗ РФ,

д.м.н (3.1.21.)

Дата «28» 11 2025 г.



Подпись д.м.н. А.Н. Пампуры заверяю: