ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующей отделением бронхиальной астмы Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Курбачевой Оксаны Михайловны на диссертационную работу Радыгиной Татьяны Вячеславовны на тему: «Прогностические критерии эффективности терапии генно-инженерными препаратами при иммунозависимых заболеваниях в детском возрасте», представленную в диссертационный совет ДСУ 24.1.173.01 на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.2.7. Иммунология и 3.1.21. Педиатрия.

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Т.В. Радыгиной посвящена решению актуальной проблемы современной клинической иммунологии и педиатрии – прогнозированию ответа на генно-инженерную биологическую терапию (ГИБП) у детей с иммунозависимыми заболеваниями. В исследование включены дети с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), вульгарным псориазом (ПС) и ремиттирующим рассеянным склерозом (РС), с нозологиями, различающимися клиническими проявлениями, но объединенными нарушением иммунной регуляции и необходимостью длительной патогенетической терапии.

Внедрение биологических препаратов принципиально изменило возможности лечения среднетяжелых и тяжелых форм иммунозависимых заболеваний, включая ВЗК, вульгарный псориаз и рассеянный склероз. Однако, исследования последних лет показали, что назначение таргетной терапии не гарантирует достижения стойкой ремиссии. У части пациентов отсутствует первичный ответ, у других со временем формируется вторичная утрата эффективности. В детской практике эта проблема имеет особую значимость, поскольку неэффективное лечение сопряжено не только с продолжающимся воспалением, но и с нарушением роста и развития ребенка, накоплением необратимых органных изменений, снижением качества жизни и ограничением последующих терапевтических возможностей.

Следует учитывать и экономическую сторону вопроса. Генно-инженерная биологическая терапия относится к дорогостоящим методам лечения, а решение о продолжении, интенсификации или смене терапии должно приниматься на основании объективных данных. Клинические индексы, инструментальные исследования и стандартные лабораторные показатели необходимы, но не всегда позволяют заранее определить вероятность недостаточного ответа. Поэтому поиск биомаркеров, отражающих ключевые механизмы иммунного воспаления и способных прогнозировать результат лечения, является одним из наиболее востребованных направлений персонализированной медицины.

Выбор автором клеточных, функциональных и метаболических показателей представляется обоснованным для решения проблемы по прогнозированию ответа на ГИБП. Баланс Th17-лимфоцитов и регуляторных Т-клеток, функциональное состояние миелоидных супрессорных клеток, структура пула Т-клеток памяти, пуринергическая регуляция, опосредованная эктонуклеотидазами CD39 и CD73, внутриклеточный энергетический метаболизм лимфоцитов, цитокиновый профиль и активность ядерного фактора транскрипции NF-κB отражают разные, но взаимосвязанные уровни иммунного ответа. Дополнение этого комплекса терапевтическим лекарственным мониторингом блокаторов TNF позволяет связать иммунопатогенетические механизмы с реальной фармакокинетикой препаратов.

Особенно важно, что исследование выполнено в педиатрической популяции. Иммунологические показатели у детей существенно зависят от возраста, поэтому прямое использование пороговых значений, полученных у взрослых, методологически некорректно. В этой связи разработка критериев в различных возрастных группах детей и их проверка на отдельных этапах лечения представляют несомненный научный и практический интерес. Таким образом, актуальность темы диссертации не вызывает сомнений.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность сформулированных положений определяется прежде всего объемом клинического материала. В исследование включено 915 детей в возрасте от 3,5 до 18 лет: 486 пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, 182 ребенка с вульгарным псориазом, 147 пациентов с рассеянным склерозом и 100 практически здоровых детей группы сравнения.

Дизайн исследования соответствует поставленным задачам. Пациентов обследовали до начала терапии, после индукционного курса и во время поддерживающего лечения ГИБП. Продолжительность наблюдения и терапии в отдельных группах составляла несколько лет, что позволило оценивать не только ранний клинический ответ, но и сохранение эффективности препаратов в отдалённом периоде. Активность заболевания определялась с использованием принятых клинических критериев (PCDAI, PUCAI, PASI, BSA), эндоскопических исследований при воспалительных заболеваниях кишечника и магнитно-резонансной томографии при рассеянном склерозе.

Методическая часть работы отличается комплексностью. Применены современные методы исследования - многоцветная проточная цитометрия и проточная цитометрия с визуализацией, позволившие количественно оценить основные (Т-, В-, NK-клетки) и минорные популяции лимфоцитов, включая регуляторные Т-клетки (Treg), Th17-лимфоциты, активированные Т-хелперы (Thact), клетки-супрессоры миелоидного происхождения (MDSCs), а также Т-клетки памяти. Помимо содержания клеток определялась функциональная активность лимфоцитов, в том числе по экспрессии эктонуклеотидаз CD39/CD73 в малых популяциях (Treg, Th17-лимфоцитах, Thact), АТФ-азная активность CD39 в Treg, активность аргиназы-1 в MDSCs, активность сукцинатдегидрогеназы и глицерол-3-фосфатдегидрогеназы в популяциях лимфоцитов. Кроме того, проведен количественный анализ белков окислительного фосфорилирования и гликолиза, циркулирующих цитокинов и их комплексов. Самостоятельным блоком стало исследование активности

фактора транскрипции NF-κB, а также терапевтический лекарственный мониторинг инфликсимаба, адалимумаба и антител к ним.

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием непараметрических критериев, множественной пошаговой регрессии, ROC-анализа с расчетом площади под кривой, чувствительности, специфичности и пороговых значений, а также анализа выживаемости терапии методом Каплан-Майера. Такой подход позволил перейти от описания различий в группах к формированию клинически применимых разделительных критериев.

Основные научные положения последовательно подтверждаются результатами. Повышение индекса Th17/Treg ассоциировалось с недостаточной эффективностью терапии при всех изученных заболеваниях. Прогностическое значение имели абсолютное содержание регуляторных клеток, отдельные субпопуляции Т-клеток памяти, экспрессия CD39 и активность сукцинатдегидрогеназы в регуляторных Т-лимфоцитах. При обострении выявлялись признаки метаболического переключения лимфоцитов в сторону повышения активности гликолиза, повышение концентрации провоспалительных цитокиновых комплексов и активности NF-κB. Согласованность этих результатов свидетельствует о том, что автор оценивает совокупность иммунологических показателей, отражающих функциональное состояние иммунной системы в целом.

Практически значимы данные о терапевтическом лекарственном мониторинге. Т.В. Радыгиной установлены различия остаточных концентраций блокаторов TNF в состоянии ремиссии и в обострении у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. Рассчитаны пороговые уровни для достижения клинической и эндоскопической ремиссии, показано влияние нозологии и массы тела ребенка. Коррекция дозы или интервала введения на основании мониторинга позволила достичь ремиссии у 72% детей, получавших инфликсимаб, и у 63% пациентов, получавших адалимумаб, тогда как без мониторинга соответствующие показатели

составляли 21 и 30%. Эти данные убедительно подтверждают клиническую целесообразность предложенного подхода.

Логическим завершением работы является оригинальный двухэтапный алгоритм иммунологического обследования детей с ВЗК, вульгарным псориазом и рассеянным склерозом. На первом этапе, до начала лечения, оцениваются индекс Th17/Treg и активность сукцинатдегидрогеназы в Treg. На втором этапе, после индукционного курса и во время поддерживающей терапии, при необходимости используются дополнительные нозологически ориентированные показатели. Алгоритм обеспечивает не менее 70% совпадений прогноза с фактическим результатом лечения. Важно, что автор предусматривает ступенчатое применение тестов, а не одномоментное назначение всего лабораторного комплекса.

Выводы соответствуют поставленным задачам и полностью обоснованы полученными результатами. Практические рекомендации конкретны и логически вытекают из выводов и результатов диссертационной работы. В целом, научные положения, выводы и рекомендации представляются достаточно обоснованными.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность результатов диссертационной работы Т.В. Радыгиной обеспечивается репрезентативной общей выборкой, наличием группы сравнения, динамическим наблюдением, применением валидированных клинических критериев и современных лабораторных технологий. Исследование выполнено с соблюдением этических требований и одобрено локальным этическим комитетом ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (протокол № 9 от 10 июля 2020 г). Фактический материал подробно представлен в таблицах и рисунках, а статистически значимые различия сопровождаются расчетом диагностических характеристик.

Отдельно следует отметить проверку прогностических моделей. Для маркеров с хорошим качеством ROC-модели Т.В. Радыгина сопоставила

прогноз с фактическим исходом на внутренних выборках, а часть показателей была проверена во внешней группе пациентов с псориазом, получавших устекинумаб. Такая работа повышает доверие к полученным критериям, хотя окончательная оценка их воспроизводимости требует дальнейшей независимой многоцентровой валидации.

Научная новизна исследования имеет несколько уровней. Впервые в единой работе у детей с тремя иммунозависимыми заболеваниями проведено сравнительное динамическое исследование клеток врожденного и адаптивного иммунитета в зависимости от результата биологической терапии. Получены пороговые значения индекса Th17/Treg, регуляторных клеток и Т-клеток памяти, активности СДГ в Treg, активности NF-κB в NK-клетках, позволяющие оценивать риск недостаточного ответа.

Новыми являются данные о роли иммунного метаболизма. Установлена связь обострения с уменьшением содержания белков окислительного фосфорилирования и усилением гликолитических процессов. Снижение активности сукцинатдегидрогеназы в Treg ассоциировалось как с неэффективностью лечения, так и с уменьшением выживаемости биологической терапии. Эти результаты расширяют представление о функциональной несостоятельности регуляторного звена иммунитета и показывают, что количественной оценки клеточных популяций недостаточно без характеристики их метаболического состояния.

Заслуживают внимания результаты изучения пуринергической регуляции, аргиназы-1 в MDSCs и транслокации ядерного фактора транскрипции κB из цитоплазмы в ядро в популяциях лимфоцитов. Показано, что доля NK-клеток с транслокацией NF-κB выше установленных пороговых значений отражает активность воспалительного процесса. Выявленная ранняя динамика активности NF-κB после введения блокаторов TNF представляет интерес как потенциальный функциональный тест ответа на терапию.

Самостоятельной новизной обладают результаты лекарственного мониторинга у детей, включая различия требуемых концентраций

адалимумаба в зависимости от массы тела и глубины ремиссии. Впервые комплекс клинических, иммунологических и фармакологических данных объединен с анализом выживаемости терапии и положен в основу двухэтапного алгоритма. Это придает работе завершенный характер и подтверждает ее соответствие уровню докторской диссертации.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость работы Т.В. Радыгиной заключается в развитии представлений о механизмах ответа на биологическую терапию. Полученные данные показывают, что эффективность лечения определяется не одним медиатором или одной клеточной популяцией, а соотношением эффекторных и регуляторных звеньев иммунной системы, функциональной активностью супрессорных и эффекторных клеток, энергетическим метаболизмом лимфоцитов, пуринергической регуляцией и активностью внутриклеточных сигнальных путей. Такой комплексный подход соответствует современному пониманию иммунозависимых заболеваний как гетерогенных состояний, требующих стратификации пациентов с использованием информативных биомаркеров.

Практическая значимость диссертационного исследования Т.В. Радыгиной определяется возможностью выделения пациентов группы риска ещё до начала терапии, с последующей оценкой после индукционного курса и в процессе поддерживающего лечения ГИБП. Предложенный автором 2-х этапный алгоритм может способствовать более раннему выявлению недостаточного ответа на терапию и своевременной коррекции тактики ведения пациента. Принципиально важно, что основные тесты отделены от уточняющих, что создает предпосылки для рационального использования лабораторных ресурсов.

С клинической точки зрения особую значимость имеет внедрение терапевтического лекарственного мониторинга блокаторов TNF. Полученные пороговые значения и результаты коррекции лечения могут использоваться

при выборе дозы ГИБП, интервала введения или смены препарата. Экспресс-определение остаточной концентрации ГИБП (инфликсимаб/адалимумаб) уже внедрено в работу центра воспалительных заболеваний кишечника у детей ФГАУ НМИЦ здоровья детей Минздрава России, что подтверждает прикладной характер исследования.

Перспективно использование индекса Th17/Treg и активности сукцинатдегидрогеназы в Treg в качестве базовых критериев. Вместе с тем, широкое применение клеточных и метаболических тестов потребует унификации преданалитического этапа, стандартизации протоколов цитометрии, установления межлабораторной воспроизводимости и оценки клинико-экономической эффективности. Эти задачи закономерно относятся к следующему этапу развития проведенного исследования и не уменьшают значимости полученных результатов.

Результаты диссертации Т.В. Радыгиной внедрены в клиническую практику подразделений НМИЦ здоровья детей, Морозовской детской городской клинической больницы, медицинских организаций Казани и Ростова-на-Дону, а также используются в образовательном процессе кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации. Широкая апробация на российских и международных научных мероприятиях и значительное число публикаций свидетельствуют о востребованности работы профессиональным сообществом.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертация соответствует специальностям: 3.2.7. Иммунология (медицинские науки) – п. 2 «Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии», 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», п. 7 «Разработка способов воздействия на иммунную систему с помощью фармакологических препаратов и методов иммунобиотерапии. Исследование эффективности и безопасности этих воздействий»; 3.1.21. Педиатрия (медицинские науки) – п. 3 «Оптимизация научно-исследовательских подходов и практических принципов ведения – диагностики, профилактики, лечения и реабилитации, а также сопровождения детей с хроническими рецидивирующими болезнями, острой патологией, подвергшихся воздействию внешних факторов, в том числе экологических и социальных. Формирование моделей и параметров оценки ведения пациента и подходов к аудиту осуществленного объема вмешательств и качества оказываемой медицинской деятельности».

Полнота освещения результатов диссертации в печати

По результатам диссертационного исследования Т.В. Радыгиной опубликовано 46 печатных работ, которые отражают содержание работы: 26 статей в научных журналах, включенных в перечень рецензируемых периодических научных изданий, рекомендованных для опубликования основных научных результатов докторских и кандидатских диссертаций (8 статей в международных наукометрических базах данных Scopus, 2 статьи - Web of Science и Scopus); 2 статьи в периодических научных изданиях; патент на изобретение; 17 публикаций в материалах конгрессов и конференций.

Содержание и оформление диссертационной работы

Структура научно-квалификационной работы отличается логической последовательностью и полнотой изложения, включает все предусмотренные для диссертационных работ разделы. Общий объём исследования составляет 552 страницы машинописного текста. Работа выполнена по классической схеме и содержит введение, обзор современной литературы, описание материалов и методических подходов, изложение результатов с их обсуждением, заключительную часть, выводы, практические рекомендации,

перечень сокращений и библиографический список. Иллюстративный материал представлен 127 таблицами и 183 рисунками. Библиография включает 643 наименования, из которых 89 - отечественные, 554 - зарубежные источники.

Во введении обоснована актуальность избранной темы, сформулированы цель и задачи работы, раскрыты научная новизна и прикладная значимость исследования, детализированы методические подходы, представлены защищаемые положения, а также приведены сведения об апробации, внедрении результатов в клиническую практику и образовательный процесс, описан личный вклад автора. Основные материалы исследования были представлены и обсуждены в ходе 25 российских и международных конференций и конгрессов.

Первая глава содержит развёрнутый обзор литературы по проблематике диссертации. Систематизированы современные представления о диагностике, патогенезе, включая иммунопатогенез, а также терапии пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, вульгарным псориазом и рассеянным склерозом.

Во второй главе («Материалы и методы») представлена подробная характеристика дизайна исследования, включая клинико-анамнестические параметры пациентов, с чёткими критериями включения и исключения, что обеспечило репрезентативность выборки и корректность последующего статистического анализа. В этом разделе также детально описаны лабораторные методики - проточная цитометрия, цитометрия с визуализацией, клеточный сортинг, мультиплексный анализ, иммунохемилюминесцентный и иммуноферментный анализы, а также приведены протоколы преаналитической подготовки образцов.

Третья глава посвящена результатам оригинальных исследований автора. Материал главы обильно иллюстрирован таблицами и графическими материалами, наглядно демонстрирующими выявленные закономерности. Представлен широкий спектр изученных показателей у пациентов с ВЗК, ПС

и РС, причём проведено сравнение как между фазами обострения и ремиссии при каждой патологии, так и межнозологическое сопоставление, что существенно облегчает интерпретацию данных.

Четвёртая глава (разделы 4.1–4.7) содержит обсуждение полученных результатов в полном объёме исследованных параметров. Анализ выполнен в группах, стратифицированных по клиническому статусу (обострение/ремиссия) и по типу ответа на генно-инженерную биологическую терапию. В рамках дискуссии рассмотрены следующие аспекты: субпопуляционный состав клеточного иммунитета; активность внутриклеточных дегидрогеназ и ферментов пуринергического метаболизма лимфоцитов; уровни отдельных цитокинов (25 аналитов) и их комплексов; диагностическая значимость оценки ядерного фактора транскрипции кВ в субпопуляциях лимфоцитов. Дополнительно проанализированы факторы (как анамнестические, так и иммунологические), влияющие на продолжительность терапевтического эффекта (выживаемость терапии), и подробно описан разработанный автором диагностический алгоритм с вариантами его клинического применения. Сопоставление собственных данных с результатами других исследователей подтверждает обоснованность сформулированных заключений. В завершающей части работы автором обобщены ключевые итоги исследования, а также обозначены перспективные направления дальнейших изысканий, которые в перспективе могут быть интегрированы в предложенный алгоритм.

На основе полученных результатов сформулированы корректные, чётко структурированные выводы, полностью соответствующие поставленным задачам. Разработанные Т.В. Радыгиной практические рекомендации аргументированы, обладают научно-обоснованной ценностью и ориентированы на применение в клинической практике.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат составлен в соответствии с предписанными требованиями и в полной мере соответствует научным положениям диссертации и обобщает выводы проведенного Т.В. Радыгиной исследования.

Замечания по содержанию и оформлению диссертации

При общей положительной оценке и отсутствии замечаний по диссертационному исследованию в рамках научной дискуссии целесообразно обсудить следующие аспекты, вызвавшие интерес в ходе ознакомления с материалами диссертации и требующие дополнительного разъяснения:

1. Поскольку исследования, предлагаемые автором для широкого применения в прогнозе эффективности назначаемых ГИБП и мониторинге продолжающегося лечения детей с хроническими воспалительными заболеваниями, не относятся к широко используемым в каждодневной практике, насколько реально внедрить в практическое здравоохранение предлагаемый Вами алгоритм? Что может препятствовать применению этих исследований?
2. Учитывая длительность терапии ГИБП при хронических воспалительных заболеваниях, как часто Вы рекомендуете повторять контроль иммунологических показателей, прогнозирующих ускользание эффекта лечения?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Радыгиной Татьяны Вячеславовны на тему: «Прогностические критерии эффективности терапии генно-инженерными препаратами при иммунозависимых заболеваниях в детском возрасте», на соискание ученой степени доктора медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной проблемы – создание прогностического алгоритма эффективности генно-инженерной биологической терапии у пациентов детского возраста на основе предикторных критериев, базирующихся на комплексе иммунологических маркеров, верифицированных в ходе многофакторного анализа, имеющей существенное значение для иммунологии

и педиатрии, что соответствует требованиям, п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановление правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (со всеми дополнениями и изменениями в последующих редакциях) предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Радыгина Татьяна Вячеславовна заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.2.7. Иммунология и 3.1.21. Педиатрия.

Официальный оппонент:
Доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением бронхиальной астмы Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства; 115522, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24; +7 (916) 673-69-82, email: kurbacheva@gmail.com

_____ Курбачева Оксана Михайловна
(подпись)

Специальность: 14.00.36. Аллергология и иммунология
Согласна на обработку персональных данных.

07 августа 2026 г.

Подпись д.м.н, профессора Курбачевой О.М. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России
к.м.н. Темнова Валерия Валериевна

_____
(подпись)

07.08 2026 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства; 115522, г. Москва, Каширское шоссе, дом 24; +7 (499) 311-67-78; email: info@nrcii.ru; сайт: https://nrcii.ru