ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующей кафедры аллергологии и иммунологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ненашевой Натальи 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 комплексному изучению иммунологических параметров клеточного и гуморального иммунитета и их роли в прогнозе эффективности генно-инженерной биологической терапии (ГИБП) у детей с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), вульгарным псориазом (ПС) и ремиттирующим рассеянным склерозом (РС). Работа выполнена на стыке фундаментальной иммунологии, клинической лабораторной диагностики, педиатрии и имеет выраженную трансляционную направленность.

ВЗК, вульгарный псориаз и рассеянный склероз у детей характеризуются хроническим течением, риском прогрессирования и инвалидизацией, которые существенно ухудшают качество жизни. Биологическая терапия существенно расширила возможности лечения среднетяжелых и тяжелых форм вышеуказанных заболеваний. Вместе с тем, первичная неэффективность и вторичная утрата ответа при лечении генно-инженерными биологическими препаратами остаются важной клинической проблемой. Продолжение неэффективной дорогостоящей терапии повышает риск обострения заболевания и развития осложнений, а необоснованно ранняя смена препарата ограничивает доступные терапевтические стратегии.

Традиционные клинические индексы, лабораторные и инструментальные показатели необходимы для оценки состояния пациента, однако часто отражают уже имеющееся обострение заболевания. Поэтому востребованы биомаркеры, способные прогнозировать риск недостаточного ответа на терапию ещё до выраженного ухудшения состояния. Автором

обоснованно исследовано содержание популяции Th17-лимфоцитов и популяции регуляторных Т-клеток (Treg), содержание клеток-супрессоров миелоидного происхождения (MDSCs), популяций Т-клеток памяти, проанализирована активность внутриклеточных ферментов лимфоцитов и экспрессия эктонуклеотидаз CD39/CD73, проведена оценка уровня цитокинов, определено содержание лимфоцитов с транслокацией ядерного фактора NF-κB для оценки активности воспалительного процесса и прогноза эффективности проводимого лечения.

Интерес представляет внедрение терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ), который позволяет контролировать уровень биологических препаратов и антител к ним в крови и тем самым повысить эффективность лечения. Автором выявлены пороговые значения концентраций ГИБП необходимые для достижения состояния ремиссии у детей с болезнью Крона и язвенного колита.

Особенно значима педиатрическая направленность работы: особенности возрастной динамики при оценке показателей выживаемости биологической терапии (в группах с ВЗК – наибольшая у детей старше 12 лет). Выявлены специфические особенности при разных нозологиях у детей. Так, в фазе обострения у детей с воспалительными заболеваниями кишечника и вульгарным псориазом обнаружено повышение концентрации комплексов цитокинов, связанных с М1 макрофагами (IL-1,IL-6,TNF-α), Т-хелперами 1 типа (IFN-γ,IL-12p70,TNF-β,IL-2), Th17-лимфоцитами (IL-1β,IL-6,IL-17A, IL17-F,IL-21,IL-22,IL-23), Th2-клетками (IL-4,IL-5,IL-13,IL-17E/IL-25,IL-33), у детей с ремиттирующим рассеянным склерозом – комплексов М1 и Th1, что подтверждает значимость Th1-клеток, М1 макрофагов, Th17- и Th2-клеток в иммунопатогенезе изученных патологий. Превышение показателей, указанных цитокиновых комплексов, выше пороговых уровней является значимым лабораторным предиктором неэффективности биологической терапии в период поддерживающего курса.

Анализ нескольких заболеваний и препаратов дает возможность выделить общие и специфические признаки ответа на биологическую терапию. На основании выявленных информативных иммунологических критериев Т.В. Радыгина разработала алгоритм иммунологического обследования у детей с ВЗК, вульгарным псориазом и рассеянным склерозом до инициации и во время лечения ГИБП.

Таким образом, тема диссертации является актуальной и соответствует современному направлению персонализированной медицины, ориентированному на прогноз эффективности, раннее выявление потери ответа и рациональное использование биологической терапии.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность положений определяется значительным клиническим материалом. В исследование включено 915 детей в возрасте от 3,5 до 18 лет: 486 пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, 182 ребенка с псориазом, 147 детей с рассеянным склерозом и 100 здоровых детей группы сравнения. Эффективность ГИБП оценивали с помощью валидированных клинических индексов, общелабораторных параметров, эндоскопического исследования (при ВЗК) и магнитно-резонансной томографии (при РС). Иммунологические показатели (основных и малых популяций лимфоцитов, клеток-супрессоров миелоидного происхождения изучались до лечения, после индукционного курса, через 52 недели и в более отдаленные сроки.

Одни и те же параметры оценивали на различных этапах терапии ГИБП, что позволило автору не ограничиться только сопоставлением групп обострение/ремиссия, а проследить направленность изменений иммунологических характеристик в зависимости от клинического эффекта ГИБП. Наличие группы практически здоровых детей обеспечило возрастное сопоставление, особенно важное при анализе минорных клеточных популяций и активности внутриклеточных и поверхностных ферментов лимфоцитов.

Основные положения подтверждаются согласованными результатами. Стойкое повышение Th17-лимфоцитов и индекса Th17/Treg ассоциировано с недостаточной эффективностью при всех изученных заболеваниях. Дополнительное прогностическое значение показано для содержания MDSCs и Treg, отдельных популяций Т-клеток памяти, экспрессии эктонуклеотидазы CD39 и активности сукцинатдегидрогеназы в Treg. Обострение сопровождалось усилением процессов гликолиза, снижением уровня белков окислительного фосфорилирования, изменением провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IFN-γ, TNF-α, CCL20/MIP-3α) и повышением активности транскрипционного фактора NF-κB. Эти данные патогенетически дополняют друг друга и обосновывают комплексный характер оценки всех изученных показателей.

На большом объеме клинического материала у детей с ВЗК убедительно показана практическая значимость терапевтического лекарственного мониторинга: рассчитаны пороговые остаточные концентрации инфликсимаба и адалимумаба, выявлена связь с клинической и эндоскопической ремиссией, продемонстрирован эффект коррекции дозы и интервала введения. Анализ клинико-анамнестических и исследованных параметров подтвердил зависимость выживаемости терапии от нозологии,

возраста, препарата, сопутствующей иммуносупрессии и иммунологических показателей.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность диссертационного исследования Т.В. Радыгиной обеспечена достаточной выборкой и динамическим наблюдением пациентов, объективными критериями оценки эффективности проводимой терапии, лабораторной базой с применением современных методов исследования (многоцветной проточной и визуализирующей цитометрией – технология АМНИС; мультиплексным анализом цитокинов и белков метаболизма клеток; иммуноферментным анализом уровней блокаторов TNF и антител к ним; автоматической многоцветной сортировкой клеток; иимунохемилюминесцентным исследованием АТФ-азной активности эктонуклеотидазы CD39).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (протокол № 9 от 10 июля 2020 г). Для перспективных иммунологических маркеров определены пороговые значения и характеристики ROC-моделей; проведена проверка совпадения прогноза с реальными исходами на внутренних и внешней выборках пациентов.

Статистическая обработка включала непараметрические критерии, регрессионный анализ, ROC-анализ с расчетом пороговых значений, а также анализ выживаемости биологической терапии по методу Каплан–Майера.

Научная новизна диссертационного исследования Т.В. Радыгиной состоит в комплексном сравнении клеточных и функциональных показателей врождённого и адаптивного иммунитета у детей с иммунозависимыми заболеваниями (ВЗК, ПС, РС) при различной эффективности терапии. Впервые определены возрастные и терапевтически специфичные пороги индекса Th17/Treg, абсолютного содержания регуляторных клеток (Treg и MDSCs) и относительного содержания Т-клеток памяти. Новыми являются данные о прогностической роли активности сукцинатдегидрогеназы в регуляторных Т-клетках и о метаболическом переключении энергетических процессов в лимфоцитах в сторону гликолиза при обострении и недостаточном эффекте терапии.

Особого внимания заслуживает показанная Т.В. Радыгиной взаимосвязь различных уровней иммунного ответа. Снижение активности окислительного фосфорилирования сочеталось с усилением гликолитических процессов в популяциях лимфоцитов и повышением концентрации патогенетически значимых циркулирующих цитокинов. Обратные корреляционные зависимости между активностями ядерного транскрипционного фактора кВ и

сукцинатдегидрогеназы (внутриклеточного фермента лимфоцитов) подтверждают, что выявленные изменения не являются изолированными лабораторными феноменами, а отражают согласованную перестройку функционального состояния клеток иммунной системы. Такая интеграция клеточных, метаболических параметров и медиаторов воспаления существенно усиливает доказательность сформулированной концепции комплексной оценки иммунологических критериев при оценке эффективности ГИБП у детей с ВЗК, псориазом и рассеянным склерозом.

Впервые комплексно у детей с ВЗК, псориазом и рассеянным склерозом изучены активность эктонуклеотидаз CD39/CD73 в популяциях лимфоцитов и установлены пороговые значения доли $CD39^+$ в регуляторных Т-лимфоцитах, уменьшение которых предсказывает утрату эффективности лечения у детей. Установлены популяционные особенности и зависимость от стадии заболевания и активности фактора транскрипции NF-κB и показана его снижение после введения блокаторов TNF при эффективном ответе на терапию. Впервые Т.В. Радыгиной получены пороговые концентрации анти-TNF препаратов у детей и выявлена связь иммунологических показателей с долговременной выживаемостью терапии. Завершением диссертационного исследования и практическим выходом работы стал авторский двухэтапный алгоритм, объединяющий клеточные, метаболические и функциональные иммунологические критерии в прогнозе эффективности биологической терапии у детей с ВЗК, псориазом и рассеянным склерозом на разных этапах лечения.

Достоверность клинической части дополнительно подтверждается результатами терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ). Коррекция дозы и интервалов введения на основании остаточной концентрации препарата и антилекарственных антител сопровождалась достижением ремиссии существенно чаще, чем при ведении пациентов без ТЛМ. Полученные данные согласуются с современной логикой персонализации биологической терапии, однако имеют самостоятельную ценность, поскольку сформированы именно в педиатрической популяции и учитывают нозологию, массу тела ребенка и степень достижения ремиссии (клиническая/ эндоскопическая).

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость результатов диссертационной работы Т.В. Радыгиной заключается в формировании целостного представления об ответе на биологическую терапию как о результате взаимодействия иммунных клеток, их эффекторной и супрессорной функций, метаболического профиля

клеток, пуринергической регуляции и цитокиновых сигнальных путей. Работа обосновывает роль баланса Th17/Treg в ответе на биологическую терапию, подтверждает связь функциональной несостоятельности миелоидных клеток-супрессоров и регуляторных Т-клеток, изменения метаболизма популяций лимфоцитов с усилением процессов гликолиза с активностью воспалительного процесса у детей при ВЗК, ПС и РС. Исследование выявило зависимость показателя выживаемости биологической терапии от формы патологии (при болезни Крона и язвенном колите), возраста пациента (при ВЗК и ПС), применяемого препарата (при ВЗК), предшествующей биологической терапии (при ВЗК), использования дополнительных иммунодепрессантов (при ВЗК и ПС) и от иммунологических показателей (при ВЗК, ПС и РС).

Таким образом, автором в ходе исследования установлены закономерности, обосновывающие необходимость комплексной оценки содержания и функциональной активности иммунных клеток для оценки тяжести воспалительного процесса и прогноза эффективности биологических препаратов при воспалительных заболеваниях кишечника, псориазе и рассеянном склерозе.

Практическая значимость диссертации определяется полученными пороговыми значениями для предиктивных показателей, включенных в разработанный автором алгоритм иммунологического обследования детей с ВЗК, ПС и РС. Он позволяет выделять пациентов с риском неэффективности ГИБП до начала терапии и контролировать ответ в динамике лечения. Рекомендации по проактивному и реактивному мониторингу блокаторов TNF у пациентов с ВЗК позволяют обоснованно выбирать дозу ГИБП, длительность интервала введения или смену биологического препарата. Перспективным представляется применение быстрого функционального теста и малоинвазивного определения активности NF-κB в NK-клетках для оценки активности патологического процесса. Для практического здравоохранения важно, что предложенная система не сводится к одномоментному определению единственного маркера. Автор предлагает ступенчатый подход: на первом этапе используются основные прогностические показатели, а уточняющие исследования выполняются с учетом этапа лечения и клинической ситуации. Такой принцип потенциально позволяет уменьшить число необязательных тестов и сосредоточить лабораторные ресурсы на пациентах с высоким риском неэффективности ГИБП. Вместе с тем, широкое внедрение алгоритма закономерно потребует унификации лабораторных протоколов обследования пациентов с иммунозависимой патологией для оценки эффективности биологической терапии.

Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику НМИЦ здоровья детей и ряда медицинских организаций Москвы, Казани и Ростова-на-Дону, а также в образовательный процесс кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации.

Таким образом, диссертация Т.В. Радыгиной имеет существенное значение как для фундаментальной иммунологии, так и для практической педиатрии.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Результаты диссертационного исследования 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 итогам проведённого исследования соискателем опубликовано 46 научных трудов, отражающие ключевые направления работы. В их числе: 26 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией для публикации ключевых результатов кандидатских и докторских диссертаций, из которых 8 статей индексируются в международной наукометрической базе Scopus, а 2 — одновременно в базах Web of Science и Scopus; 2 статьи в иных периодических научных изданиях; 1 патент на изобретение; а также 17 публикаций в сборниках материалов конгрессов и конференций. Результаты исследования доложены на российских и международных научных мероприятиях.

Содержание и оформление диссертационной работы

Содержание научно-квалификационной изложено последовательно и логично на 552 страницах машинописного текста, включая все необходимые разделы: введение, литературный обзор, глава с материалами и методами, результаты исследования, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, перечень сокращений, список использованной литературы. Следует отметить последовательность изложения материала: результаты сгруппированы по поставленным задачам, сопоставлены с данными отечественной и зарубежной литературы и завершаются заключением, подводящим к практическим рекомендациям. Объем фактического материала изложен в 127 таблицах и проиллюстрирован 182 рисунками, что позволяет судить о полноте представленных результатов. Библиографический список включает 554 зарубежных и 89 отечественных источников.

В разделе «Введение» последовательно и логически обоснованно представлена актуальность избранной темы, сформулированы цель и конкретные задачи исследования, раскрыты научная новизна и практическая значимость полученных результатов, детально охарактеризованы использованные методы, приведены выносимые на защиту положения, а также отражены сведения о внедрении результатов в учебный и клинический процесс, апробации материалов и личном вкладе автора. Основные результаты исследования были представлены и обсуждены на 25 российских и международных конференциях и конгрессах.

Первая глава «Обзор литературы» содержит углублённый анализ современных представлений о патогенезе, проблемах диагностики и иммунопатогенетических подходах к терапии пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, вульгарным псориазом и рассеянным склерозом.

Вторая глава, посвящённая материалам и методам диссертационного исследования, включает развёрнутую характеристику дизайна исследования с подробным изложением клинико-анамнестических данных, включая критерии включения и исключения пациентов. В данной главе детально и последовательно описаны лабораторные методики, включая проточную цитометрию, цитометрию с визуализацией, сортировку клеток на клеточном сортировщике, мультиплексный анализ с применением X-MAP технологии, иммунохемилюминесцентный и иммуноферментный анализы, а также протоколы пробоподготовки адаптированные автором под задачи исследования.

Третья глава отражает результаты собственных исследований автора и содержит обширный иллюстративный материал (таблицы и рисунки),

наглядно демонстрирующий выявленные закономерности. В ней представлен широкий спектр анализируемых иммунологических параметров у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, псориазом и рассеянным склерозом, причём проведено сопоставление показателей в фазах обострения и ремиссии как внутри каждой нозологии, так и между пациентами с разными патологиями. Автором проведена проверка прогностической ценности иммунологических маркеров и логическим итогом стало создание автором двухэтапного алгоритма иммунологического обследования, который подробно описан.

Четвёртая глава содержит обсуждение полученных результатов по всему спектру изученных показателей в группах пациентов по клиническому состоянию (обострение/ремиссия) и по характеру ответа на генно-инженерную биологическую терапию. В рамках дискуссии рассмотрены следующие параметры: состояние клеточного звена иммунитета, активность внутриклеточных дегидрогеназ и ферментов пуринергической регуляции, уровни цитокинов (панель из 25 аналитов) и их комплексов, а также информативность оценки ядерного фактора транскрипции кВ в субпопуляциях лимфоцитов от активности воспалительного процесса, реакцию клеток через сутки после введения биологической терапии. Дополнительно проведён анализ анамнестических и иммунологических факторов, влияющих на продолжительность терапевтического ответа (выживаемость терапии). Сопоставление собственных данных с результатами исследований других авторов подтверждает обоснованность сформулированных заключений. Автором проведён разбор предложенного алгоритма иммунологического обследования с вариантами его клинического применения у пациентов с ВЗК, псориазом и рассеянным склерозом: до начала терапии предлагается оценивать индекс Th17/Treg и активность сукцинатдегидрогеназы в регуляторных Т-клетках; после индукционного курса и в период поддерживающего лечения; при сомнительном результате используются дополнительные тесты с пороговыми значениями специфичными для конкретной патологии.

В заключительной части работы автором обобщены совокупные ключевые результаты исследования и определены направления исследования параметров, которые в последующем могут быть внесены в предложенный алгоритм для повышения прогностической значимости.

На основании полученных данных сформулированы корректные, чёткие и логически выверенные выводы, полностью соответствующие поставленной цели и задачам. Представленные практические рекомендации являются

аргументированными и обладают несомненной научно-практической ценностью.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью отражает основные положения и резюмирует выводы диссертационной работы Радыгиной Т.В.

Замечания по содержанию и оформлению диссертации

При положительной общей характеристике диссертации и отсутствии существенных недостатков, в рамках научной дискуссии в процессе изучения текста работы возникли следующие вопросы:

1. Вы установили четкие пороговые значения (cut-off) для многих маркеров, но в реальной клинической практике часто встречаются пограничные значения. Как поступать в этом случае и есть ли у Вас опыт наблюдения за такими пациентами?
2. Вы показали пользу терапевтического лекарственного мониторинга, насколько он доступен и экономически оправдан в реальной клинической практике?
3. При терапии ГИБП у определенной части пациентов через какое-то время появляются АЛА, по Вашему опыту насколько они коррелируют со снижением клинической эффективности? Какова Ваша рекомендуемая тактика при выявлении АЛА на фоне низкого остаточного уровня? Стоит ли сразу менять препарат или режим его введения?
4. Возможно ли предложенные Вами маркеры и алгоритм применить на взрослой популяции пациентов с ВЗК, ПС, РС, получающими ГИБП?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Радыгиной Татьяны Вячеславовны на тему: «Прогностические критерии эффективности терапии генно-инженерными препаратами при иммунозависимых заболеваниях в детском возрасте», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной проблемы прогнозирования ответа биологической терапии, установлены клеточные, функциональные, метаболические и фармакологические критерии эффективности лечения и разработан алгоритм иммунологического обследования детей, что имеет существенное значение для иммунологии и педиатрии, и 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 кафедрой аллергологии и иммунологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, дом 2/1, строение 1, +7(903)723-69-27, e-mail: nmnenasheva@rmapo.ru

_____ Ненашева Наталья Михайловна
(подпись)

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

18. 09. 2026 г.

Подпись д.м.н, профессора Ненашевой Н.М. заверяю:

Ученый секретарь ФГАОУ ДПО РМАНПО
Минздрава России
д.м.н., доцент Шестакова Екатерина Алексеевна

_____
(подпись)

18. 09. 2026 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, дом 2/1, строение 1; +7 (495) 680-05-99, email: rmanpo@rmanpo.ru, сайт: https://rmanpo.ru