

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 68.1.002.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР «ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело N \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 25.10.2023 № 14/2023

о присуждении Купцовой Дарье Геннадьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Иммунологические критерии эффективности терапии псориаза генно-инженерными биологическими препаратами в детском возрасте» по специальностям «3.2.7. Иммунология» и «3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика» принята к защите 10 августа 2023 года (протокол заседания №11/2023) диссертационным советом 68.1.002.01, созданным на базе ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, по адресу: 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 24 (приказ № 206/нк от 14.02.2023 г.).

Соискатель Купцова Дарья Геннадьевна, 16 августа 1992 года рождения. В 2017 г. окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, медико-биологический факультет, кафедру биохимии по специальности «Медицинская биохимия». Работает младшим научным сотрудником в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Диссертация выполнена в лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Научные руководители:

Мурашкин Николай Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, руководитель НИИ детской дерматологии, заведующий отделением дерматологии и аллергологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России;

Петричук Светлана Валентиновна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Официальные оппоненты:

Балмасова Ирина Петровна, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии Научно-исследовательского медицинского стоматологического института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Луговская Светлана Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в своем положительном отзыве, подписанном доктором медицинских наук, профессором, заведующей кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России Р.Я. Мешковой и утвержденным проректором по научной работе ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России доктором медицинских наук, профессором В.В. Бекезиным, указала, что «диссертационная работа Купцовой Дарьи Геннадьевны «Иммунологические критерии эффективности терапии псориаза генно-инженерными биологическими препаратами в детском возрасте» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям «3.2.7. Иммунология», «3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научных задач, имеющих существенное значение для иммунологии и клинической лабораторной диагностики: описана и доказана вовлеченность клеток иммунной системы в развитии и поддержании воспалительных процессов у детей с псориазом; выявлены нарушения в состоянии клеточного иммунитета, прогрессирующие с возрастом детей и тяжестью заболевания псориазом; показана роль фактора транскрипции NF-κB в активации Т-хелперов, активированных Т-хелперов, Th17-лимфоцитов, регуляторных Т-клеток при псориазическом воспалении; определены особенности иммунометаболизма

популяций лимфоцитов и выявлена информативность уровня циркулирующих цитокинов в оценке тяжести псориаза и эффективности проводимой терапии; разработаны иммунологические лабораторные критерии прогноза эффективности генно-инженерных биологических препаратов у детей с псориазом на основании информативных показателей клеточного иммунитета, метаболизма иммунных клеток, ферментов пуринергической регуляции, патогенетически значимых медиаторов воспаления и фактора транскрипции NF-κB. Диссертация Купцовой Д.Г. полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в редакции постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям «3.2.7. Иммунология», «3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика».

Соискатель имеет 23 опубликованные работы по теме диссертации, из которых 14 работ опубликовано в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для опубликования основных научных результатов докторских и кандидатских диссертаций.

Наиболее значимые работы:

1. **Купцова Д.Г.**, Петричук С.В., Мурашкин Н.Н., Курбатова О.В., Радыгина Т.В., Хотко А.А. и др. Активность ядерного фактора транскрипции κB в популяциях лимфоцитов у детей с псориазом // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2022. – №2. – С.30–38.
2. **Купцова Д.Г.**, Петричук С.В., Мурашкин Н.Н., Радыгина Т.В., Курбатова О.В. Ранние предикторы эффективности биологической терапии псориаза у детей // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2023. – №1. – С.49-52.

На автореферат диссертации поступили отзывы от Зурочки Александра Владимировича – доктора медицинских наук, профессора, ведущего научного сотрудника лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН «Института иммунологии и физиологии УрО РАН»; от Кругловой Ларисы Сергеевны – доктора медицинских наук, профессора, проректора по учебной работе, заведующей кафедрой дерматовенерологии и косметологии ФГБУ ДПО «ЦГМА»; от Савченко Андрея Анатольевича – доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией клеточно-молекулярной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН.

Отзывы положительные, замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией в области исследований, представленных в диссертационной работе, и отсутствием совместных работ и договорных обязательств с соискателем.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция о роли клеток-эффекторов, клеток-супрессоров и медиаторов воспаления в развитии и поддержании хронического воспаления у детей с псориазом, позволившая выявить новые закономерности исследуемого явления;

предложена оригинальная научная гипотеза об использовании содержания основных и малых популяций лимфоцитов, Т-клеток памяти, клеток-супрессоров миелоидного происхождения, активности митохондриальных дегидрогеназ, экспрессии аргиназы-1 и ферментов пуринергической регуляции для оценки тяжести заболевания псориазом и эффективности ГИБП у детей;

доказана перспективность использования лабораторных иммунологических показателей – содержания Th17-лимфоцитов, регуляторных Т-клеток, активированных Т-хелперов, клеток-супрессоров миелоидного происхождения и их субпопуляций, популяций CD4<sup>+</sup>-Т-клеток памяти, содержания CD39<sup>+</sup>Treg, активности СДГ в Treg, уровня IFN- $\gamma$ , IL-12p70, IL-21, IL-23, IL-27, IL-31, TNF $\alpha$  в сыворотке крови – в прогнозе эффективности биологической терапии псориаза у детей;

введены новые иммунологические критерии оценки тяжести заболевания псориазом у детей и прогноза эффективности применения генно-инженерных биологических препаратов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана патогенетическая роль клеток-эффекторов иммунной системы и провоспалительных цитокинов в развитии и поддержании воспалительной реакции при псориазе у детей, что обосновывало применение таргетной антицитокиновой терапии в тактике лечения данного заболевания;

применительно к проблематике диссертации эффективно, с получением принципиально новых результатов использован широкий комплекс иммунологических методов исследования, в том числе метод проточной цитометрии, метод проточной цитометрии с визуализацией, иммуоцитохимические методы и мультиплексный анализ;

изложены новые современные иммунологические подходы к исследованию клеточного иммунитета, включающие количественный анализ уровня транслокации NF-κB в популяциях лимфоцитов у детей с вульгарным псориазом, позволившие доказать участие NF-κB-опосредованного сигнального пути в регуляции воспалительной реакции при псориазе;

раскрыты изменения характера метаболизма популяций лимфоцитов и супрессорной активности клеток-супрессоров миелоидного происхождения у детей с псориазом при разной эффективности биологической терапии;

изучена зависимость количественных характеристик иммунологических параметров от длительности и эффективности терапии генно-инженерными биологическими препаратами при псориазе в детском возрасте;

проведена модернизация существующих алгоритмов диагностики оценки тяжести заболевания псориазом у детей с добавлением информативных иммунологических показателей клеточного иммунитета (Th17, Treg, Thact, MDSCs, M-MDSCs) и медиаторов воспаления (IL-17A, TNFα, IL-2, IL-6, IL-9).

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены новые иммунологические критерии, позволяющие персонафицировано и своевременно проводить коррекцию биологической терапии псориаза в детском возрасте;

определены перспективы практического использования иммунологических показателей (Thact, Th17/Treg, эффекторные Т-клетки памяти), ферментов пуринергической регуляции (CD39<sup>+</sup>Treg), метаболизма лимфоцитов (СДГ в Treg), уровня транслокации NF-κB в популяциях лимфоцитов (NK-клетки, Th17, CD8<sup>+</sup>-Т-клетки) и уровня цитокинов (IFN-γ, IL-12p70, IL-21, IL-23, IL-27, IL-31, TNFα) в прогнозе эффективности ГИБП у детей с вульгарным псориазом;

созданы практические рекомендации по лабораторной диагностике тяжести псориаза у детей и эффективности ГИБП;

представлены предложения по дальнейшему совершенствованию обследования детей с вульгарным псориазом, которая будет способствовать прогнозу эффективности биологической терапии и позволит своевременно проводить коррекцию лечения, сокращая сроки реабилитации и сохраняя качество жизни пациентов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты получены на сертифицированном и откалиброванном оборудовании, эксперименты проведены по стандартизированным методикам, выполнены на высоком научно-методическом уровне и воспроизводимы;

теория построена на известных проверяемых фактах об иммунопатогенезе псориаза и подходах к лечению данной патологии и согласуется с опубликованными данными по теме диссертации;

идея базируется на обобщении передового опыта исследований по изучению эффективности генно-инженерных биологических препаратов у пациентов с иммунозависимыми заболеваниями;

использовано сравнение полученных автором данных и данных отечественных и зарубежных исследований по рассматриваемой тематике;

установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

использованы современные методики сбора и обработки клинико-лабораторных данных; объем проведенных исследований достаточен для выработки обоснованных заключений.

Личный вклад соискателя состоит в участии на всех этапах выполнения диссертационного исследования, проведении анализа современной научной литературы по теме исследования, непосредственном участии в отработке и проведении протоколов иммунологического обследования пациентов и получении первичных данных, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по теме выполненной работы.

В ходе защиты диссертации были заданы вопросы, на которые соискатель Купцова Д.Г. ответила и привела собственную аргументацию:

**Вопрос:** были ли отличия в иммунологических показателях, которые Вы изучали, в зависимости от вводимого генно-инженерного биологического препарата?

**Ответ:** Мы изучали блокаторы TNF $\alpha$  (адалimumаб и этанерцепт) и устекинумаб, блокатор IL-12/23. Достоверной разницы в определяемых иммунологических показателях мы не выявили, но мы наблюдали большой разброс данных показателей.

**Вопрос:** Не могли бы Вы подробнее рассказать о роли NF- $\kappa$ B в патогенезе псориаза?

**Ответ:** При псориазе NF-κB напрямую отвечает за контроль и продукцию провоспалительных цитокинов. Основная его роль заключается в активации сигналинга в кератиноцитах у пациентов с мутацией гена *CARD14*, который ассоциирован с развитием псориаза.

**Вопрос:** Разрабатываются ли какие-нибудь таргетные препараты, которые будут специфически ингибировать NF-κB сигнальный путь?

**Ответ:** Работы по разработке таргетной терапии, направленной на контроль NF-κB, ведутся. Контроль активации NF-κB наиболее важен и использование проточной цитометрии с визуализацией будет способствовать исследованиям в данной области.

**Вопрос:** Были ли у вас пациенты, которые имели не только кожные поражения, но и суставные? Как эффективно они отвечали на терапию ГИБП?

**Ответ:** Мы наблюдали детей с суставным синдромом, но в исследование их не включали, они вошли в критерии исключения для данного исследования.

**Вопрос:** Учитывали ли в своем исследовании предшествующую терапию – метотрексат или иммуносупрессивные препараты?

**Ответ:** В нашем исследовании до инициации биологической терапии были как пациенты на наружной терапии (метотрексат, циклоспорин), так и наивные дети.

**Вопрос:** Были ли в той группе, которая неэффективна по ГИБП, наивные больные, которые до этого ничего не получали из терапии? По характеристикам эти группы как-то отличались?

**Ответ:** В данное исследование мы не вносили глубокий анализ пациентов с неэффективным влиянием ГИБП в зависимости от предшествующей терапии. Требуется большая выборка пациентов, чтобы учесть влияние всех факторов, но один характерный фактор у детей с разным эффектом – тяжесть псориаза.

**Вопрос:** Референсные интервалы устанавливали Вы сами, либо использовали готовые коммерческие для всех методов, которые были в докладе представлены?

**Ответ:** Референсные значения для здоровых детей получены нами. Дети обследовались не один год: показатели клеточного иммунитета, ядерного фактора транскрипции NF-κB, за исключением показателей цитокинов.

**Вопрос:** планируете ли Вы вносить изменения в клинические рекомендации, по псориазу, для того, чтобы в клинической лабораторной диагностике была реальная возможность применять методы в практике?

**Ответ:** Возможность выполнения определенного метода, конечно же, зависит от технического снабжения медицинского учреждения, где наблюдаются пациенты с псориазом. Для коррекции лечения у детей с псориазом можно рекомендовать такой метод проточной цитометрии, с помощью которого, в первую очередь, возможно оценить показатели клеточного иммунитета.

**Вопрос:** В работе речь идет об определенных иммунофенотипах псориаза, в разной степени устойчивых к ГИБП. Как бы Вы условно обозначили наиболее чувствительный и наиболее устойчивый фенотип?

**Ответ:** Основываясь на наших результатах, мы можем выделить фенотипы пациентов, которые, скорее всего, будут плохо отвечать на терапию ГИБП. В первую очередь это клеточно-опосредованный фенотип. Кроме того, это определенный фенотип метаболизма клеток иммунной системы. Снижение активности митохондриальных дегидрогеназ и ферментов пуринергической регуляции связано с развитием устойчивости к действию ГИБП. Что касается цитокинового профиля, то наиболее устойчивый к ГИБП фенотип характерен для пациентов с умеренно повышенными уровнями цитокинов IFN $\gamma$ , IL-12p70, IL-21, IL-23, IL-27, IL-31 и TNF $\alpha$ .

Диссертация Купцовой Д.Г. «Иммунологические критерии эффективности терапии псориаза генно-инженерными биологическими препаратами в детском возрасте» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям «3.2.7. Аллергология и иммунология», «3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований осуществлено решение актуальных задач, имеющих существенное значение для иммунологии и клинической лабораторной диагностики: раскрыты механизмы вовлеченности клеток иммунной системы в развитие и поддержание воспалительных процессов у детей с псориазом; выявлены нарушения в состоянии клеточного иммунитета, прогрессирующие с возрастом и тяжестью заболевания; изучена роль фактора транскрипции NF- $\kappa$ B в активации Т-хелперов, активированных Т-хелперов, Th17-лимфоцитов, регуляторных Т-клеток при псориазическом воспалении; установлены особенности метаболизма популяций лимфоцитов и выявлена

информативность уровня циркулирующих цитокинов в оценке тяжести состояния и эффективности проводимой терапии; разработаны лабораторные критерии прогноза эффективности ГИБП у детей с псориазом на основании содержания Thact, соотношения Th17/Treg, содержания наивных и эффекторных Т-клеток памяти, уровня цитокинов (IFN- $\gamma$ , IL-12p70, IL-21, IL-23, IL-27, IL-31, TNF $\alpha$ ) в сыворотке крови.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, представленным к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями от 21.04.2016 г. № 335), а ее автор достоин присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.2.7. «Иммунология» и 3.3.8. «Клиническая лабораторная диагностика».

На заседании 25.10.2023 года диссертационный совет принял решение: за решение актуальных научных задач, имеющих существенное значение для иммунологии и клинической лабораторной диагностики присудить Купцовой Д.Г. ученую степень кандидата медицинских наук по специальностям «3.2.7. Иммунология» и «3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 22 доктора наук по специальностям рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета (23, входящих в состав совета на постоянной основе, и 3, включенных в состав совета на разовую защиту), проголосовали: за – 22, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета  
член-корр. РАН, доктор медицинских наук,  
профессор



  
М.Р. Хаитов

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор биологических наук

  
Г.О. Гудима

27.10.2023