

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Топтыгиной Анны Павловны  
на тему: «Комплексная оценка процессов формирования и поддержания  
иммунологической памяти на примере вакцинации против кори, краснухи и  
эпидемического паротита», представленной на соискание ученой степени доктора  
медицинских наук по специальности  
14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

**Актуальность работы.** Корь, краснуха и паротит относят к инфекциям, управляемым с помощью вакцинации. Тем не менее, корь остается опасной болезнью, уносящей до 1 млн. жизней в год, а краснуха и паротит могут вызывать тяжелые осложнения, включая репродуктивную сферу. Очевидно, что современные вакцины недостаточно эффективны для формирования коллективного иммунитета, что связано с изменчивостью возбудителей, т.е. их выраженной способностью к эвазии, а также снижением иммунной защиты у людей в глобальном масштабе. С позиций современной клеточной и молекулярной иммунологии раскрываются механизмы формирования поствакцинального иммунитета, основанного на дифференцировке клеток иммунной памяти, от долговечности которых зависит напряженность и продолжительность иммунитета после прививок. Поэтому проведение научных разработок на современном уровне по комплексному изучению механизмов формирования и, главное, поддержания иммунологической памяти в ответ на вакцинацию живыми аттенуированными вирусами представляется весьма перспективным.

**Целью работы** явилось совершенствование подходов к повышению эффективности вакцинации против кори, краснухи и эпидемического паротита на основании изучения клеточных и молекулярных механизмов формирования и поддержания иммунологической памяти на вирусные антигены с использованием стандартных и оригинальных методических подходов.

**Задачи работы,** общим числом 7, отражают поставленную цель.

**Научная новизна исследования.**

Показано, что после вакцинации усиливается экспрессия молекулы CD150 (SLAM) на Т- и В-лимфоцитах, являющейся рецептором для вируса кори.

После вакцинации Приорикс половина детей реагировала преимущественно по типу Th1, тогда как другая половина – по типу Th2. После прививки вакциной Приорикс отмечено транзитное повышение уровня субпопуляции Th17 и ее основного провоспалительного медиатора IL-17A в крови, что компенсировалось последующим повышением количества T-регуляторных клеток, а также продукции IL-10 и TGF-β.

Обнаружена реакция эффекторных Т-клеток памяти на антигены вирусов кори и краснухи в виде специфически индуцированной дегрануляции цитотоксических CD8<sup>hi</sup> лимфоцитов, что может быть использовано для оценки их активности. В работе показано, что специфичные к вирусам кори и краснухи цитотоксические клетки памяти, способны отвечать на антиген спустя многие годы после прививки или перенесенного заболевания.

С помощью методов математического моделирования определены информативные показатели иммунного статуса, определяющие высоту и продолжительность специфического гуморального ответа на антигены вакцины Приорикс, позволяющие предсказать исход вакцинации против кори, краснухи и эпидемического паротита у детей через 4 недели и 1 год после прививки.

**Практическая значимость работы.** Предложен способ оценки субклассов специфических IgG к антигенам вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита. Разработан метод оценки специфического клеточного иммунного ответа цитотоксических Т-лимфоцитов на антигены вирусов кори и краснухи на основе реакции специфически индуцированной дегрануляции цитотоксических CD8<sup>hi</sup> лимфоцитов, защищенный патентом № 2464571.

Определен спектр информативных цитокинов для оценки первичного (IL-4, TNF-α и IFN-γ) и вторичного (IL-1, IL-2, IL-4, IL-10, TNF-α и IFN-γ) иммунного ответа.

На основании математического моделирования, выделены маркеры-предикторы и разработан алгоритм, позволяющий по результатам иммунологических анализов периферической крови предсказать эффективность вакцинации через месяц и вероятность сохранения (или утери) защитных уровней антител в крови через год после нее. Представленный алгоритм позволит вычлнить группы лиц с угрозой развития первичных и вторичных вакцинальных неудач до проведения до вакцинации.

С целью повышения продукции специфических антител рекомендуется введение одновременное препарата полиоксидоний с вакциной Приорикс детям группы прогнозируемого риска.

#### **Материал и методы.**

Объектами исследования были дети, подлежащие вакцинации или ревакцинации против кори, краснухи и эпидемического паротита и получавшие прививку Приорикс. Детей обследовали с помощью клинико-лабораторных методов и получали от них пробы крови. Научная работа была организована и проведена согласно «Российским и международными требованиям по надлежащей клинической практике» - ГОСТ Р 52379-2005, GOOD CLINICAL PRACTICE (GCP), одобренными Российской академией медицинских наук.

Автором использованы современные методы исследования: клинико-лабораторные; иммунологические: проточной цитофлюориметрии при многоцветном окрашивании для регистрации фенотипа лимфоцитов и пролиферации мононуклеаров периферической крови; турбидиметрии для характеристики субклассов антител; иммуноферментного - для определения основных цитокинов, а также статистические методы и методы математического моделирования.

#### **Степень достоверности и апробация результатов исследования.**

О достоверности результатов исследования свидетельствует использование адекватных, современных методов, обладающих высокой чувствительностью и объективностью. Исследования были проведены на современных автоматических диагностических приборах, обладающих системами автоматизированного сбора, учета и анализа данных. Автором использованы корректные методы статистической обработки материала и адекватные методы математического моделирования.

Результаты исследования доложены на международных и отечественных конференциях с 2002 по 2014 гг.

#### **Публикации по теме диссертации.**

По материалам исследования опубликовано 60 печатных работ, из них статей в журналах, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий», рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки РФ для публикаций основных результатов диссертационных исследований с высоким индексом цитирования – 23; статей в зарубежных журналах, цитируемых в PubMed, Medline, Index Medicus – 3; статей вне перечня ВАК – 3; патентов на изобретение – 1 и материалов научных конгрессов и конференций - 30.

#### **Объем и структура диссертации.**

Диссертация изложена на 343 страницах. Она состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», трех глав результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 48 таблицами, 84 рисунками и 2 приложениями. Список литературы содержит 662 источника, из них работ отечественных авторов – 84, зарубежных авторов – 578.

**Личный вклад автора.** Практически вся работа выполнена автором самостоятельно.

#### **Основные результаты диссертационной работы.**

В результате проведенных исследований автором было показано, что на введение антигенов вакцины Приорикс иммунная система реагирует как целостная система. Так, в группе здоровых детей показатели иммунного статуса соответствовали возрастной норме, тогда как в группе «иммунокомпрометированных» детей были значимо снижены. Направленность количественных изменений в составе основных субпопуляций лимфоцитов

после вакцинации определялась исходным состоянием иммунной системы и была обусловлена либо перераспределением лимфоцитов из крови в лимфоидные органы, либо активацией лимфоцитов в ответ на антиген и формированием иммунологической памяти.

Вакцинация Приорикс не сопровождалась аллергизацией детей, не имевших ранее аллергических реакций, что подтверждалось отсутствием повышения у них IL-5, транзиторным повышением общих IgE у детей с атопическим дерматитом и ответивших на вакцинацию по типу Th2 нормализовалось через месяц после вакцинации без клинических проявлений обострения аллергии.

Транзиторное повышение количества Th17 и их основного цитокина IL-17A в крови привитых возвращалось к исходному уровню через 6 недель после прививки без каких-либо клинических проявлений.

При вакцинации препаратом Приорикс, гуморальный иммунный ответ на компоненты вакцины формировался неравномерно. Максимальный ответ наблюдался на антигены вируса краснухи, среднее положение занимал ответ на вирус кори, наихудшие параметры продемонстрировал гуморальный иммунный ответ на вирус эпидемического паротита. Это выражалось в проценте сероконверсий, количестве специфических IgG-антител, их авидности и продолжительности сохранения защитных уровней антител во времени.

В процессе созревания специфического гуморального иммунного ответа происходило переключение субклассов специфических антител с IgG3 на IgG1. Клетки памяти продуцировали, в основном, антитела IgG1.

При потере защитных уровней антител активация сохранившихся специфических В-клеток памяти обладала способностью быстро, но не мгновенно, произвести большое количество высокоавидных антител преимущественно IgG1-субкласса. Это приводит к тому, что ранее привитой человек может заболеть при контакте с диким вирусом, но, благодаря быстрой реакции клеток иммунной памяти, будет болеть нетяжелыми, стертыми формами заболевания.

Оценка количества и функциональной активности Т-клеток памяти в реакции антиген-индуцированного пролиферативного ответа на антигены вирусов кори и краснухи, индукции продукции цитокинов антигенами этих вирусов (функция Т-хелперов памяти) и реакции специфически индуцированной дегрануляции цитотоксических CD8<sup>hi</sup> лимфоцитов (эффektorные Т-клетки памяти) позволила с вероятностью более 98% определить наличие или отсутствие специфического клеточного иммунного ответа. Важно, что эти специфические Т-клетки памяти способны длительно сохраняться в иммунном организме.

Автором выявлены прямые корреляции между отдельными звеньями специфического гуморального ответа на три составных вируса вакцины, а также между различными звеньями специфического клеточного иммунного ответа, и обратные (отрицательные) корреляционные связи между звеньями специфического гуморального и клеточного иммунного ответа.

Применение полиоксидония одновременно с вакцинацией в группе «иммунокомпromетированных» детей увеличивает количество специфических антител на все три компонента вакцины до уровня группы здоровых детей без нарушения их состояния здоровья.

Методами математического моделирования выявлены предикторы (параметры иммунного статуса), позволяющие с 95% вероятностью прогнозировать полноценность формирования гуморального иммунного ответа через 4 недели после прививки и поддержание в течение 1 года защитных уровней специфических IgG-антител на вакцину Приорикс. Предложены формулы для расчета абсолютного количества специфических IgG-антител, образующихся через 4 недели после прививки против вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита.

Автором разработан алгоритм, позволяющий до проведения вакцинации против кори, краснухи и эпидемического паротита прогнозировать формирование первичных (отсутствие защитных уровней антител через 4 недели после прививки) и вторичных (истощение уровня

специфических антител через 1 год после вакцинации) вакцинальных неудач для подбора индивидуальных схем вакцинации детям из этих групп риска.

**Выводы**, общим числом 11, достоверны и логично вытекают из существа работы.  
В 60 опубликованных работах отражен основной материал диссертационной работы.

Таким образом, на основании знакомства с авторефератом, считаю, что диссертация Топтыгиной Анны Павловны на тему: «Комплексная оценка процессов формирования и поддержания иммунологической памяти на примере вакцинации против кори, краснухи и эпидемического паротита», представляет собой новое крупное достижение в исследовании механизмов эффективности вакцинации на основе изучения молекулярных принципов формирования иммунологической памяти. Материалы, изложенные в автореферате, позволяют сделать вывод о соответствии объема и качества проведенных исследований, а также формы изложения их результатов требованиям п. 9 Постановления Правительства России № 842 от 24.09.2013 г. «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, и оцениваются как завершённая работа, отвечающая высоким критериям докторской диссертации, а ее автор Топтыгина А.П. присуждения искомой степени.

Ведущий советник аппарата  
Комитета Государственной Думы  
по науке и наукоёмким технологиям,  
доктор биологических наук

*28.05.2015.*

Рабочий адрес: 103265, г. Москва, Охотный ряд, д.1  
Телефон (рабочий или мобильный): 8495 6924072, 89035670714  
e-mail: annarizopulu@inbox.ru

А.П. Ризопулу

