

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.046.02 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 18 июня 2015 г. № 2.

О присуждении Топтыгиной Анне Павловне, гражданке Российской Федерации ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация «Комплексная оценка процессов формирования и поддержания иммунологической памяти на примере вакцинации против кори, краснухи и эпидемического паротита» по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология принята к защите 13.03.2015 г., протокол № 1 диссертационным советом Д 208.046.02 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ №714/нк «О совете по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 года, приказ № 219/нк от 5.03.2015г., част.изм.

Соискатель – Топтыгина Анна Павловна, 1959 года рождения. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук «Генетические особенности действия лекарственных препаратов с цитостатической и иммунодепрессивной активностью» защитила в 1991 году в Специализированном ученом совете Д.001.16.01, созданном на базе Всесоюзного научного медико-генетического центра АМН СССР. Работает в должности ведущего научного сотрудника лаборатории цитокинов в Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Диссертация выполнена в лаборатории цитокинов в Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научные консультанты: доктор медицинских наук Ярилин Александр Александрович, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России, руководитель лаборатории дифференцировки лимфоцитов (умер 27.08.2013); доктор биологических наук Алешкин Владимир Андрианович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского»

Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, директор.

Официальные оппоненты: Пинегин Борис Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России, заведующий отделом иммунодиагностики и иммунокоррекции; Тотолян Арег Артемович – член-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, зам. директора по научной работе; Продеус Андрей Петрович – доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, заведующий кафедрой факультетской педиатрии, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России – в своем положительном заключении, подписанном Анатолием Петровичем Суловым, доктором медицинских наук, профессором, заведующим лабораторией медиаторов и эффекторов иммунитета, указала, что диссертация является целостным, законченным научно-квалификационным трудом, результатом которого явилось решение актуальной народно-хозяйственной проблемы – повышение эффективности вакцинации против вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита и прогнозирование вероятности формирования первичных и вторичных вакцинальных неудач у привитых детей.

Соискатель имеет 106 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 60 работ, из которых 23 статьи опубликованы в рецензируемых научных изданиях, 3 статьи в зарубежных рецензируемых научных журналах, индексируемых PubMed, 1 патент и 30 тезисов – в материалах международных и всероссийских конгрессов и конференций, общим объемом 198 страниц с авторским вкладом 185 страниц. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации: 1. Топтыгина, А.Р. IgG subclass profile of antimeasles response in vaccinated children and adults with measles history. / А.Р. Топтыгина, А.Л. Pukhalsky, V.A. Alioshkin // Clin. Diag. Lab. Immunol. – 2005. – V.12 (7). – P. 845-847; 2. Топтыгина, А.П. Продукция цитокинов у интактных детей и привитых вакциной «Приорикс» в ответ на стимуляцию антигенами вирусов кори и краснухи. / А.П. Топтыгина, В.А. Алешкин // Иммунология – 2011. – Т. 32(4). – С. 200-205; 3. Топтыгина, А.П. Изменение количества Т клеток памяти в ответ на вакцинацию «Приорикс». / А.П. Топтыгина, Е.Л. Семикина, В.А. Алешкин // Российский иммунологический журнал – 2012. – Т. 6 (15), № 3. – С.253-258; 4. Топтыгина, А.П. Формирование и поддержание специфического клеточного ответа на вакцинацию «Приорикс». / А.П. Топтыгина, Е.Л. Семикина, В.А. Алешкин // Иммунология – 2013. –

Т. 34(5). – С. 257-261; 5. Топтыгина, А.П. Прогнозирование специфического гуморального иммунного ответа на основании исходных параметров иммунного статуса детей, привитых против кори, краснухи и эпидемического паротита. / А.П. Топтыгина, В.В. Азиатцева, И.А. Савкин, А.А. Кислицин, Е.Л. Семикина, Д.С. Гребенников, В.А. Алешкин, А.В. Сулимов, В.Б. Сулимов, Г.А. Бочаров // Иммунология – 2015. – Т. 36(1). – С. 22-30.

На диссертацию и автореферат поступило 6 положительных отзывов без замечаний от: 1) д.м.н., профессора Калининой Н.М., главного научного сотрудника отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России; 2) д.м.н., профессора Тузанкиной И.А., главного научного сотрудника лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН; 3) д.б.н. Хайдукова С.В., старшего научного сотрудника отдела «Научно-инновационный центр Технопарк» ФГБУН «Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова» РАН; 4) д.м.н., профессора Климовича В.Б., заведующего лабораторией гибридной технологии и д.б.н. Самойлович М.П., ведущего научного сотрудника той же лаборатории ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Минздрава РФ; 5) д.м.н. Гришиной Т.И., профессора кафедры клинической аллергологии и иммунологии ГОУ ВПО Московский государственный медицинский стоматологический университет им. А.И.Евдокимова; 6) д.б.н. Ризопулу А.П., ведущего советника аппарата Комитета Государственной Думы по науке и наукоёмким технологиям. В отзывах отмечено, что автором получены новые данные о процессах развития и поддержания иммунного ответа на антигены вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита, позволяющие прогнозировать формирование первичных и вторичных вакцинальных неудач.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, и большим опытом работы в области иммунологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана научно обоснованная концепция о значимой связи параметров иммунного статуса человека до прививки с эффективностью вакцинации через 4 недели и вероятностью сохранения (или утери) защитных уровней антител в крови через 1 год после нее. Для каждого из трех вирусов, входящих в вакцину Приорикс (корь, краснуха, эпидемический паротит), выявлены предикторы (значимые параметры иммунного статуса до прививки), позволяющие прогнозировать успех вакцинации, разработаны формулы для расчета количества специфических IgG-антител к вирусам кори, краснухи и эпидемического паротита через 4 недели после вакцинации Приорикс. Предложена оригинальная научная гипотеза о влиянии связывания вирусом кори в качестве рецептора SLAM-молекулы, участвующей в регуляции специфического гуморального иммунного ответа, на запаздывание переключения синтеза специфических антител с IgG-3 на IgG-1 субкласс, чего не

наблюдается при специфическом гуморальном ответе, например, на вирус краснухи, неспособном связывать SLAM-молекулу. Доказана перспективность использования в практике методов оценки спектра субклассов специфических IgG для различия первичного и вторичного иммунного ответа на антигены вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита, что особенно важно для анализа заболеваемости среди лиц с неизвестным прививочным анамнезом. Введено понятие когорты лиц, угрожаемых по развитию первичной или вторичной вакцинальной неудачи. Эта когорта может быть сформирована на основании выявленных автором закономерностей течения вакцинального процесса, которые позволяют выделить предикторы низкого или нестойкого иммунного ответа на вакцину Приорикс.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что автором изучен комплекс показателей, характеризующих вовлеченность различных звеньев клеточного и гуморального иммунитета на разных этапах вакцинального процесса, что позволило создать целостную картину, отражающую взаимное влияние различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток в процессе иммунизации. Доказаны положения о том, что иммунная система привитых реагирует на вирусные антигены вакцины как по типу Th1, так и по типу Th2. Несмотря на то, что у части детей, реагирующих по типу Th2, и у детей с атопическим дерматитом отмечается транзиторное повышение общих IgE на 7-й день после прививки, уровень IgE самопроизвольно возвращается к исходному через 4 недели без появления или обострения клинических проявлений аллергии. Также наблюдающееся после прививки транзиторное повышение уровня провоспалительной субпопуляции Th17 и ее основного цитокина IL-17A в крови компенсируется последующим повышением количества Т-регуляторных клеток и их противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β , что приводит к нормализации провоспалительных параметров. Выявленные закономерности вносят вклад в расширение представлений о механизмах формирования и поддержания иммунологической памяти, в частности, на вирусные антигены. Применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы математического моделирования, а именно, разработан конструктивный алгоритм, позволяющий по результатам иммунологических анализов периферической крови до прививки прогнозировать вероятность формирования первичных и вторичных вакцинальных неудач (подана заявка на изобретение). На основании проведенных исследований изложена идея о том, что даже идеальная вакцина не может гарантировать 100%-ную безопасность и эффективность. Иммунная система должна ответить на введенную вакцину, а значит должны возникнуть отклонения - «норма реакции» иммунитета. Раскрыто несоответствие полученных результатов имеющимся представлениям о том, что добавление вирусов кори в культуру клеток приводит к снижению экспрессии молекулы SLAM. Автором показано, что после вакцинации повышается экспрессия молекулы CD150 (SLAM), являющейся рецептором для вируса кори, как на Т-лимфоцитах, так и, в большей степени, на В-клетках. Противоречие связано с тем, что в ранее проведенных работах вирусы кори

добавляли в культуру клеток трансфицированных SLAM, постоянно экспрессирующих эту молекулу, а наивные лимфоциты не экспрессируют SLAM, но способны повысить ее экспрессию при активации. Изучена связь между возрастными особенностями функционирования иммунной системы и новыми аспектами различий между первичным и вторичным иммунным ответом. Показана возрастная динамика нарастания количества центральных и эффекторных Т- и В-клеток памяти, а также их увеличение в ответ на прививку Приорикс. Обнаружено, что количество Т-фолликулярных хелперов транзиторно повышается после прививки, но общее их количество практически не подвержено возрастным изменениям. Выявлено, что по мере взросления и иммунологического созревания организма ответ на первичную вакцинацию имеет некоторые особенности, например, в спектре субклассов IgG против кори у детей 6-7 лет появляются специфические IgG2-антитела, чего не наблюдается у детей в возрасте 1-2 лет. Обнаруженные закономерности углубляют научные представления о формировании, созревании и функционировании иммунного ответа в целом. Проведена модернизация численных методов, в частности рекомендовано использовать метод расчета второй производной для оценки динамически изменяющихся показателей, например для оценки направления и интенсивности дифференцировки Т-хелперов после вакцинации.

Значение полученных соискателем результатов исследований для практики подтверждается тем, что были разработаны и внедрены: 1) новый метод для оценки специфического клеточного иммунного ответа на основе реакции дегрануляции CD8^{hi}-лимфоцитов в ответ на антигены вирусов кори и краснухи, защищенный патентом, и 2) новые методы для оценки субклассов специфических IgG на антигены вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита, рассчитаны значения порогового критерия, позволяющие с вероятностью 95% дифференцировать первичный и вторичный иммунный ответ (подано 3 заявки на изобретение). На основании проведенного математического моделирования определены предикторы (параметры иммунного статуса до прививки), позволяющие прогнозировать формирование первичных и вторичных вакцинальных неудач при вакцинации Приорикс (подана заявка на изобретение). Создана система практических рекомендаций по коррекции спрогнозированных первичных и вторичных вакцинальных неудач. Для коррекции низкого или нестойкого антительного ответа на прививку рекомендовано введение одновременно с вакциной Приорикс полиоксидония детям с исходно сниженными показателями иммунного статуса, входящим, по результатам прогнозирования, в группу риска по формированию первичных или вторичных вакцинальных неудач. Представлены предложения по дальнейшему совершенствованию эффективности вакцинации у лиц из групп риска по формированию первичных и вторичных вакцинальных неудач.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что исследование проведено на высоком научно-методическом уровне с использованием адекватных, современных методов, обладающих высокой чувствительностью и объективностью

на сертифицированных диагностических приборах, оснащенных системами автоматизированного сбора, учета и анализа данных. Теория была построена на известных проверяемых данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации. Идея базируется на анализе практики серологической оценки эффективности вакцинации и на обобщении мирового научно-исследовательского опыта исследования иммунных процессов. Используются общепринятые методические подходы, а также авторские разработки и методики. Установлено, что большинство результатов исследования согласуется с результатами других авторов, представленных в независимых источниках по данной тематике. Размер исследованных выборочных совокупностей достаточен и обоснован подбор объектов наблюдения, были использованы современные корректные методы статистической обработки материала и адекватные методы математического моделирования.

Личный вклад соискателя состоит в проведении вакцинации и клинико-иммунологическом обследовании детей, подлежащих вакцинации против кори, краснухи и эпидемического паротита, до и после вакцинации, обработке клинических данных; сборе и обработке биологического материала; выделении лимфоцитов периферической крови; пробоподготовке для определения поверхностных CD маркеров; культивировании лимфоцитов с митогенами и антигенами вирусов кори и краснухи, оценке пролиферативной активности и процента дегрануляции CD8⁺ лимфоцитов. Самостоятельно автором были выполнены все тесты по определению количества цитокинов мультиплексным методом и тесты, основанные на методе ИФА, и осуществлена статистическая обработка полученных данных, а также подготовка публикаций по теме диссертации.

На заседании 18.06.2015 г. диссертационный совет принял решение присудить Топтыгиной Анне Павловне ученую степень доктора медицинских наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 13 докторов наук по специальности 14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология», участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени - 14, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Зам. председателя диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор
Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук
18.06.2015



Бляхер Мария Сергеевна

Новикова Лидия Ивановна