

**ОТЗЫВ официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук Намакановой Ольги Александровны  
на тему: «Роль TNF и IL-6 в патогенезе аллергического воспаления и  
фиброзе легких у мышей»  
по специальности 3.2.7. Иммунология**

**Актуальность темы исследования**

Астма является одним из самых частых неинфекционных иммунопатологических заболеваний человека. По данным ВОЗ в мире в 2023 году было зарегистрировано 363 миллионов пациентов с данной нозологией, с 442 000 летальными случаями [<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/asthma>]. Астма, поражая людей всех возрастов, является гетерогенным как по этиологии, так и патогенезу заболеванием. Применяемые патогенетические подходы терапии (в основном применяются кортикостероиды, агонисты бета2-адренорецепторов) в значительной степени (до 80% пациентов) купируют основные симптомы манифестации заболевания (отдышка, затруднение дыхания, кашель), однако не способны надежно обеспечить длительный контроль заболевания у 30-50% пациентов [[doi.org/10.1159/000529251](https://doi.org/10.1159/000529251), [doi.org/10.1038/s41533-024-00402-w](https://doi.org/10.1038/s41533-024-00402-w)]. В этой связи продолжение исследований, направленных на детализацию патогенеза заболевания, а также на поиск и апробацию новых терапевтических подходов сохраняет свою актуальность по настоящее время [[10.15406/jlpr.2020.07.00223](https://doi.org/10.15406/jlpr.2020.07.00223)].

Резистентные к стероидам формы астмы часто ассоциированы с нейтрофильной или смешанной гранулоцитарной инфильтрацией тканей дыхательных путей, в патогенезе которых принимает активное участие целый ряд провоспалительных цитокинов: ИЛ-1бета, 4,5,6,13, 17, 33, ФНО и др. Следуя этой логике блокирование цитокин-опосредованных патогенетических путей может представлять один из альтернативных путей терапевтического воздействия. Интересно, что избирательное блокирование

ФНО или ИЛ-6 приводило к умеренному терапевтическому эффекту у доли пациентов в проведенных клинических исследованиях [10.1089/jir.2022.0211]. При этом оба цитокина не только участвуют в патогенезе астмы, но и являются маркерами, отражающими течение заболевания [10.1016/j.scitotenv.2022.155536]. Учитывая изложенное, возможно предположить, что добровольцы в проведенных клинических исследованиях имели различные формы астмы, в связи с чем общая выборка показала умеренную эффективность препаратов, блокирующих цитокины. В то же время известен многоуровневый синергизм и некоторая избыточность в функциях провоспалительных цитокинов, за счет чего происходит частичная компенсация функций деpleцированного цитоткина [10.3390/medicina55110621, 10.3390/ijms25105510]. В этой связи сочетанное снижение концентрации цитокинов позволяет ожидать более выраженный терапевтический эффект. Представленная работа ставит перед собой не только актуальную, но и отличающуюся новизной цель исследования – изучить вклад TNF и ИЛ-6 в развитие HDM-индуцированной астмы и LPS-опосредованного фиброза легких у мышей *in vivo*. Важно отметить, что автором, на модели HDM-индуцированной астмы, используя специфические блокаторы ФНО и ИЛ-6, проводилось определение эффектов не только при индивидуальном, но и сочетанном понижении концентрации данных цитокинов на животных. На модели LPS-опосредованного фиброза легких использовались трансгенные животные, которые позволили определить эффекты реализуемые как при повышенном уровне ИЛ-6, так и при его отсутствии (нокаутные животные). В целом, результаты работы позволяют дополнить существующие знания о роли ИЛ-6 и ФНО в патологии различных форм астмы, определить их вклад в реализацию проявлений заболевания (изменение механических параметров ткани легкого и инфильтрацию ткани иммунными клетками), а также оценить перспективу практического применения терапевтического подхода основанного на блокировании ИЛ-6 и ФНО совместно или по отдельности.

## **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Исходя из представленного материала научные положения и выводы, сформулированные автором, основываются на достаточном объеме проведенного исследования, не вызывают сомнений и видятся обоснованными.

В частности, определение степени ремоделирования дыхательных путей проводилась двумя независимыми методами: анализом срезов тканей легкого (используя также несколько окрасок - окрашенных гематоксилином и Шифф-йодной кислотой, а также по методу Массона) и анализом функциональной активности (сохранности) легких. В целом, для решения поставленных задач, автор использует большое число современных методов исследования, включая крайне трудоемкие – цитофлуориметрический анализ иммунных клеток в ткани легких с внутриклеточной детекцией экспрессии цитокина ИЛ-17 и транскрипционного фактора ROR $\gamma$ t+.

Достоверность и адекватность полученных результатов подтверждается включением достаточного для проведения статистического анализа количества животных в экспериментальные группы. Кроме того, важный вклад вносит проведение экспериментов с использованием нокаутных по ИЛ-6 животных, а также животных с гиперэкспрессией ИЛ-6, что позволяет верифицировать обнаруженные эффекты.

## **Научная новизна исследования**

Работа содержит ряд приоритетных данных позволяющих более детально определить уникальные эффекты цитокинов ФНО и ИЛ-6 в патогенезе астмы. Во-первых, на модели воспалительной патологии легких индуцированной введением HDM (экстракт пылевого клеща) впервые было показано, что блокирование ИЛ-6 приводит к снижению количества нейтрофилов и альвеолярных макрофагов в бронхоальвеолярных лаважах

(БАЛ) и Th17 клеток в легких. В то время как блокирование ФНО приводит к снижению количества эозинофилов, IgE в БАЛ. Дополнительно блокирование ФНО снижает количество Th2 клеток в легких и концентрацию Th2-опосредованных цитокинов (ИЛ-4, 5,13) в БАЛ. Найденные различия в опосредуемых эффектах двух цитокинов нашли свое отражение в более эффективном противовоспалительном эффекте на тканевом уровне при использовании комбинированной схемы терапии. Сочетанная блокировка ИЛ-6 и ФНО привела к выраженному (статистически достоверному) снижению степени инфильтрации воспалительных клеток, а также степени гиперплазии бокаловидных клеток в ткани легкого. Используя модель ЛПС-индуцированного воспалительного повреждения легкого с последующим фиброзом органа, было впервые показано, что нокаут как гена ИЛ-6, так и гена ФНО (нокаутные животные) приводит к значительному снижению количества нейтрофилов в крови животных относительно мышей дикого типа. Известно, что нейтрофилы принимают ключевую роль в патогенезе астмы человека [doi.org/10.3390/jcm14207137]. Однако только мыши с нокаутом гена ИЛ-6 показали лучшие функциональные характеристики легких (эластичности и сопротивления) относительно мышей дикого типа. Избыточная продукция ИЛ-6 определяет выраженное системное воспаление, приводящее к ремоделированию легочной ткани у мыши с hIL-6, транслирующееся в снижение общей эластичности и повышении общей податливости легких.

Эти новые результаты дополняют имеющиеся фундаментальные знания о функциях ИЛ-6 и ФНО в астматической патологии и создают экспериментально доказанную основу для исследований направленных на поиск новых подходов терапии астмы человека.

Не вызывает сомнений, что результаты каждой из перечисленных групп экспериментов, представленных автором в работе, отличаются новизной и крайне востребованы медицинской наукой. Об этом, в частности, свидетельствуют 5 публикаций автора в рецензируемых научных журналах.

## **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Высокая степень теоретической и практической значимости достигается за счет разностороннего экспериментального подхода в определении ФНО- и ИЛ-6-опосредованных эффектов на легочную ткань мышей. Во-первых, автором были использованы две различные модели воспалительной патологии легких мышей, отражающих различные аспекты астмы у человека: воспалительное ремоделирование воздухоносных путей легких индуцированное введением HDM (экстракт пылевого клеща) и воспалительное повреждение и фиброз легких, индуцированный LPS (липополисахаридом). Учитывая, что модель выбранной патологии человека на животных не может отражать все многообразие нозологических форм заболевания, применение в работе нескольких животных моделей позволяет повысить достоверность получаемых результатов и их значимость для клинической практики. Во-вторых, на модели ЛПС индуцированного воспалительного повреждения легких с фиброзным ремоделированием использовались как нокаутные по ИЛ-6 животные, так и животные с повышенной продукцией данного цитокина. Такой разносторонний подход в исследовании позволяет получить надежные данные, которые определяют роль ИЛ-6 в патологии астмы. Найденные различия в функциях ФНО и ИЛ-6 вносят заметный вклад в фундаментальные знания о функционировании иммунной системы млекопитающих в условиях такой часто встречаемой патологии как астма. Результаты работы также имеют прямой потенциал для практического применения. Определенный в работе выраженный эффект подавления воспалительного и фиброзного ремоделирования легочной ткани при блокировке ИЛ-6 и/или ФНО предлагает основу для разработки подходов для патогенетической терапии астмы человека в клинических исследованиях. Кроме того, видится перспективным апробация предложенного подхода блокирующего ФНО и ИЛ-6 для терапии пациентов

с фибротическими изменениями в легких (идиопатический лёгочный фиброз, эмфизема и др.).

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационная работа, выполненная Намакановой Ольги Александровны на тему: «Роль TNF и IL-6 в патогенезе аллергического воспаления и фиброзе легких у мышей» по целям, задачам, методическому подходу и полученным результатам соответствует пунктам 3 (Изучение патогенеза иммуноопосредованных (аллергии, первичные и вторичные иммунодефициты, аутоиммунные болезни) и других заболеваний) и 6 (Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических других иммунопатологических процессов) паспорта специальности 3.2.7. Иммунология.

### **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 5 научных статьях в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования. Апробация результатов состоялась в многочисленных отечественных и международных конференциях (всего 8). Опубликованные работы соответствуют основным научным положениям диссертации.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа написана в традиционном стиле и состоит из глав «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», а также включает списки сокращений и использованной литературы. Диссертация изложена на 105 страницах, включает 23 рисунка, 5 таблиц и 2 приложения. Список цитируемой литературы включает 266 источника. В главе «Введение» представлены

актуальность исследования, сформулированы цель и задачи исследования, определен объект исследования, представлены теоретическая и практическая значимость, указана методология и выбранные методы исследования, положения, выносимые на защиту, личный вклад автора, а также степень достоверности и апробация результатов исследования.

Глава «Обзор литературы» включает 5 подразделов. В первом подразделе автор рассматривает патогенез астмы. Далее, учитывая фокус диссертационного исследования, автор суммирует имеющиеся знания по литературным источникам относительно роли ИЛ-6 и ФНО в патогенезе астмы. В заключительном подразделе приводится актуальная информация об исследованиях, направленных на блокирование цитокинов для коррекции состояния астматических пациентов.

В главе «Материалы и методы» автор детально указывает использованные в работе методы исследования, включая модели воспалительного повреждения легких с использованием ЛПС и HDM, выделения иммунных клеток из легких, а также методы анализа воспалительной патологии (проточная цитометрия, метод ПЦР с обратной транскрипцией, мультиплексного анализа цитокинов и др.).

Глава «Результаты» включает 5 подразделов. По смыслу работу можно разделить на три больших блока. В первом блоке автор характеризует модель воспалительного повреждения легкого мышей вызванного введением HDM. На данной животной модели автор, используя фармакологические ингибиторы ИЛ-6 и ФНО и их сочетание, детально определяет эффекты при их применении в БАЛ и ткани легкого. Во втором блоке автор переходит к модели ЛПС-опосредованного воспалительного повреждения легкого. Для определения эффектов реализуемых цитокинами ИЛ-6 и ФНО автор применяет мышей нокаутных по соответствующим генам. Наконец, в последнем подразделе автор проводит оценку воспалительных изменений легких у мышей с гиперэкспрессией ИЛ-6.

Все три блока работы объединяются общей темой диссертационной работы, отражающей эффекты ИЛ-6 и ФНО в моделях, воспроизводящих различные этапы/нозологические формы астмы человека.

В главе «Обсуждение» автор интерпретирует полученные результаты в контексте данных литературы по теме диссертации. Работа завершается общим заключением и выводами, которые обобщают основные результаты исследования.

### **Соответствие автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат диссертации полностью отражает основные результаты и содержание диссертации.

### **Основные замечания и вопросы по рассматриваемой работе**

При прочтении текста возникло несколько замечаний и вопросов к диссертанту, носящих дискуссионный характер:

1. В главе «Материалы и методы» автор указывает, что воспаление дыхательных путей индуцировали однократным ингаляционным введением группе мышей 5 мл ЛПС в концентрации 2 мг/мл. Каким образом рассчитывался данный объем, принимая во внимание, что средний объем легких у мышей весом 20-30 грамм составляет около 1 мл [10.1152/jappphysiol.01322.2009]?
2. Автор использует однофакторный дисперсионный анализ (1-way ANOVA), но не указывает, применялись ли post-hoc тесты с коррекцией на множественные сравнения (например, Tukey или Bonferroni).
3. Оценивалась ли эффективность нейтрализации ИЛ-6 и ФНО в экспериментах с использованием фармакологической блокировки цитокинов? Если да, то какие значения были получены?

4. Исходя из эффективности комбинированного введения блокаторов ИЛ-6 и ФНО на животной модели тяжелой астмы, какой/какие подтипы астмы (эозинофильная, нейтрофильная, смешанная) и стадии заболевания видятся предпочтительными для будущей апробации эффективности комбинированного терапевтического подхода в рамках клинических исследований?

Вместе с тем, указанные замечания и вопросы не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 3.2.7. Иммунология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Намаканова Ольга Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.7. Иммунология.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией микоплазм и L-форм бактерий  
ФГБУ «НИЦЭМ им.Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, к.б.н.  
Тухватулин Амир Ильдарович

15 мая 2026 года

Контактные данные:

тел.: \_\_\_\_\_, e-mail: [amir\\_tukhvatuln@gamaleya.org](mailto:amir_tukhvatuln@gamaleya.org)

03.02.03: Микробиология

14.03.09: Клиническая иммунология, аллергология

Адрес места работы:

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации. 123098, г.Москва, ул. Гамалеи, дом 18. Тел.: +7 (499) 193-30-01.

Эл.почта: [info@gamaleya.org](mailto:info@gamaleya.org)