

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

**на диссертационную работу Еремеевой Анны Викторовны на тему:  
«Патогенетическая роль транскрипционного фактора Foxp3 в  
кооперативной регуляции транскрипционных факторов c-Maf, GATA3 и  
T-bet при различных вариантах бронхиальной астмы», представленную на  
соискание учёной степени кандидата медицинских наук  
по специальности 14.01.25 – пульмонология.**

**Актуальность темы.** Диссертационная работа посвящена актуальной проблеме клинической медицины – изучению патогенетических механизмов формирования бронхолегочных заболеваний, центральным дефектом которых является изменение функционирования сигнальных систем.

Известно, что бронхиальная астма широко распространена во многих странах, в том числе и в России. Несмотря на достигнутые успехи в ее лечении, на сегодняшний день существует тенденция к увеличению числа больных с тяжелым или резистентным течением бронхиальной астмы, особенно у детей и лиц молодого возраста.

Изучение патогенеза заболевания дало основание полагать, что в развитии бронхиальной астмы важную роль играют нарушения на уровне внутриклеточных сигнальных систем. В последнее время активно исследуется роль транскрипционных факторов лимфоцитов в системе регуляции клеточной сигнализации, причем необходимо отметить, что несмотря на наличие данных литературы о роли в формировании бронхиальной астмы транскрипционных факторов Foxp3, GATA-3, c-Maf, T-bet в отдельности, их кооперативные взаимодействия изучены явно недостаточно. Немаловажную роль играет и тот факт, что место транскрипционного фактора Foxp3 в патогенезе бронхолегочной патологии до конца не установлено, а c-Maf ранее исследовался в основном при онкологических заболеваниях и его роль при формировании и течении бронхиальной астме описана лишь в единичных публикациях.

Приведенные положения обосновывают актуальность и своевременность темы данного диссертационного исследования. Можно полагать, что при бронхиальной астме существует дисбаланс в микросетях транскрипционных факторов, вовлеченных в регуляцию клеточной кооперации, что может

определять клинические особенности при различных вариантах данного заболевания.

Автор четко сформулировала цель исследования, направленную на установление патогенетической роли транскрипционных факторов Foxp3, GATA-3, c-Maf, T-bet при различных вариантах бронхиальной астмы, выделила три основные задачи для ее реализации и в ходе их решения получила важные научные результаты.

**Научная новизна.** Исследование является фундаментальным научным трудом, посвященным изучению кооперативной регуляции целого ряда транскрипционных факторов у больных бронхиальной астмой и практически здоровых лиц. Автором впервые определена роль Foxp3 в патогенезе бронхиальной астмы и его связь с клиническими особенностями заболевания.

Впервые проведено исследование c-Maf в мононуклеарах периферической крови у больных аллергической (АБА) и неаллергической (НАБА) бронхиальной астмой в сравнении с группой практически здоровых лиц в зависимости от клинико-патогенетических особенностей заболевания.

Впервые установлен характер комплексного кооперативного действия транскрипционных факторов Foxp3, GATA3, c-Maf, T-bet в регуляции функций Т-лимфоцитов при бронхиальной астме. Наряду с этим в ходе исследования был установлен характер изменений концентраций иммуноглобулина Е и ряда цитокинов (IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-13, IL-6, IL-17), ассоциированных с транскрипционными факторами Foxp3, GATA3, c-Maf и T-bet).

**Ценность для науки и практики** выводов и рекомендаций, вытекающих из диссертационного исследования, заключается в том, что автор разработал комплексный малоинвазивный подход к анализу уровней экспрессии мРНК Foxp3, GATA3, T-bet и c-Maf в мононуклеарах периферической крови больных бронхиальной астмой. Это позволит определить степень нарушения контроля клеточной сигнализации и послужит дополнительным критерием для оценки клинических особенностей заболевания. Кроме того, автором охарактеризован подтип бронхиальной астмы с высокими значениями сывороточного интерлейкина 17, характеризующийся снижением экспрессии Foxp3, что может иметь важное практическое значение для прогнозирования тяжести заболевания.

**Реализация и апробация результатов исследования.** Работа апробирована на многих российских и международных научных форумах, имеется достаточное количество публикаций (13) в том числе и в реферируемых журналах.

Результаты проведенных исследований внедрены в лечебную практику пульмонологического отделения клиники госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства Здравоохранения РФ (197022, СПб, ул. Льва Толстого, д. 6-8, тел. (812) 234-54-51, [vnmineev@mail.ru](mailto:vnmineev@mail.ru), [www.spb-gmu.ru](http://www.spb-gmu.ru)), а также межклинического аллергологического отделения ПСПбГМУ им.акад.И.П.Павлова (197022, СПб, ул. Льва Толстого, д. 6-8, тел. (812) 234-24-75, [www.spb-gmu.ru](http://www.spb-gmu.ru)) и консультативно-диагностического центра на базе поликлиники №31 Петроградского района Санкт-Петербурга (197022, СПб, ул. Льва Толстого, д. 6-8, тел. (812) 499-71-60, <http://poliklinika-31-spb-gmu-im.spb24.net>).

Общее количество обследованных лиц составляет 129 человек (82 больных бронхиальной астмой, 47 практически здоровых лиц), что является достаточным для получения достоверных выводов. При обработке полученных данных автором использовались современные методы параметрической и непараметрической статистики.

Обращает внимание, что применяемые автором методы обследования больных бронхиальной астмой являются стандартизированными и современными. Работа была выполнена на базе кафедры госпитальной терапии и лаборатории Научно-Методического Центра по молекулярной медицине на базе ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. При этом соискатель сама принимала участие во всех этапах диссертационной работы.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертация изложена на 201 странице машинописного текста, содержит 4 главы, выводы и практические рекомендации. Список литературы включает 186 источников. Структура диссертации представлена в традиционной форме. Во введении обосновывается актуальность диссертационного исследования, сформулирована цель работы и задачи, дается информация об апробации диссертации; содержатся сведения о научной новизне, приводятся

практические рекомендации и положения, выносимые на защиту. Обзор литературы (первая глава) охватывает самые современные сведения о нарушениях клеточной и цитокиновой регуляции при различных вариантах бронхиальной астмы, а также информацию о влиянии проводимой терапии на микросети транскрипционных факторов, что свидетельствует о высокой эрудиции автора по всем вопросам изучаемой проблемы. Во второй главе обращает внимание использование инновационных методов исследования с подбором уникальных последовательностей праймеров транскрипционных факторов.

Глава, посвященная результатам собственных исследований, содержит 5 подглав. В первой подглаве приводятся данные о том, что у больных бронхиальной астмой (как АБА, так и НАБА) отмечается значимое снижение экспрессии транскрипционного фактора Foxp3 в сравнении с практически здоровыми лицами. У пациентов с неаллергической бронхиальной астмой данные изменения положительно коррелировали с ОФВ1. Для больных с тяжелой степенью заболевания характерны наименьшие значения экспрессии мРНК Foxp3 в сравнении со средней и легкой степенью бронхиальной астмы. Автор делает обоснованный вывод о том, что при бронхиальной астме присутствует нарушение регуляторной функции  $T_{reg}$ .

Во второй подглаве содержатся сведения об особенностях экспрессии транскрипционного фактора GATA3. Так у больных АБА присутствует значимое повышение мРНК GATA3. Уровень экспрессии мРНК GATA3 при НАБА нарастает при увеличении степени тяжести, достигая максимальных значений при тяжелом течении, что может играть патогенетическую роль в усугублении тяжести заболевания.

В третьей подглаве автор показывает, что среди трех обследованных групп группа АБА характеризовалась снижением экспрессии мРНК T-bet. В то же время у пациентов с НАБА, в целом характеризовавшихся уровнями T-bet сходными с группой практически здоровых лиц, при нарастании степени тяжести заболевания выявлено снижение экспрессии мРНК данного транскрипционного фактора. У пациентов с бронхиальной астмой, получавших терапию глюкокортикостероидами (ингаляционными и парентеральными), показано снижение T-bet, наиболее выраженное у больных, получающих

парентеральную глюкокортикостероидную терапию, что позволяет автору сделать вывод об иммуносупрессивном действии указанной группы препаратов на клеточную сигнализацию.

В четвертой подглаве приводятся данные о том, что транскрипционный фактор c-Maf обладает сходными особенностями экспрессии с другим Th2-специфичным фактором GATA3, а именно повышением уровня мРНК у больных АБА.

Пятая подглава описывает особенности изменения концентраций иммуноглобулина E и цитокинов. Характер экспрессии цитокинов соответствует доминирующему типу воспаления: пациенты с АБА характеризовались достоверным повышением Th2-ассоциированных цитокинов (IL-4, -13, IgE), пациенты с НАБА – достоверным повышением Th1-ассоциированного цитокина (IFN- $\gamma$ ). Кроме того, пациенты с тяжелым течением бронхиальной астмы характеризовались максимальными значениями интерлейкинов 6 и 17. Регрессионный анализ между уровнями Foxp3 и IL-17 в группах бронхиальной астмы показал наличие корреляционных связей как в группе АБА, так и в группе НАБА, что в совокупности с разнонаправленной динамикой экспрессии мРНК и уровней IL-17 указывает на развитие у больных бронхиальной астмой дисбаланса между Foxp3+Treg и Th17 в пользу повышения активности Th17 и снижения Foxp3+Treg клеток, что приводит к снижению экспрессии мРНК Foxp3 и повышению экспрессии IL-17 в мононуклеарах периферической крови.

В четвертой главе обобщаются полученные данные и обсуждаются результаты проведенного исследования, раскрывается впервые примененная комплексная оценка микросетей четырех транскрипционных факторов, в том числе с помощью суммарного коэффициента для одновременной оценки экспрессии сразу двух транскрипционных факторов. Автор впервые показал, что у больных бронхиальной астмой существует дисбаланс в системах Th1/Th2/Foxp3+Treg и Th17/Foxp3+Treg, что может определять клинические особенности при различных вариантах бронхиальной астмы.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Принципиальных замечаний по диссертации нет.

В процессе рецензирования работы возникли некоторые вопросы, не снижающие общей ценности диссертации:

1. Какое из звеньев многокомпонентной кооперации транскрипционных факторов играет наиболее важную роль в патогенезе как аллергической так и не аллергической бронхиальной астмы?
2. Насколько значимо участие таких провоспалительных цитокинов как IL-1b, IL-6, TNF-a в патогенезе не аллергической бронхиальной астмы, поскольку они занимают одно из ведущих мест в развитии любого воспалительного процесса?
3. Как может влиять базисная терапия бронхиальной астмы на кооперативные взаимодействия транскрипционных факторов?

### **Заключение**

Диссертационная работа Еремеевой Анны Викторовны «Патогенетическая роль транскрипционного фактора Foxp3 в кооперативной регуляции транскрипционных факторов c-Maf, GATA3 и T-bet при различных вариантах бронхиальной астмы», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.25 – пульмонология, выполненная при научном руководстве доктора медицинских наук Л.Н. Сорокиной, является завершённой научной квалификационной работой, в которой решена актуальная задача разработки комплексного малоинвазивного подхода к оценке экспрессии транскрипционных факторов Foxp3, c-Maf, GATA3, T-bet в мононуклеарах периферической крови больных бронхиальной астмой с анализом их кооперативных взаимодействий на различных уровнях, имеющая важное значение для пульмонологии.

По актуальности темы, объёму проведенных исследований, методическому уровню, новизне, теоретической и практической ценности полученных результатов, обоснованности выводов и положений диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. с изменениями от 21.04.2016 г. № 335, предъявляемым к

