

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 диссертационной работы. Актуальность диссертационной работы А.В. Еремеевой обусловлена возрастающей в популяции частотой бронхиальной астмы и трудностью достижения контроля над состоянием больного. На сегодняшний день бронхиальная астма представляет собой важную медицинскую и социально-экономическую проблему. На особом месте стоит рост числа пациентов с тяжелым течением заболевания терапии. Следует отметить, что качество жизни значительной части трудоспособных больных, несмотря на существующие методы лечения, значительно страдает в связи с неэффективностью терапии у данной группы пациентов.

Неизвестность механизмов резистентности обуславливает необходимость изучению патогенеза бронхиальной астмы, в том числе на уровне регуляции межклеточных взаимодействий. В последнее время активно изучается роль транскрипционных факторов в клеточной сигнализации. До сих пор основное внимание уделялось отдельным транскрипционным факторам. Лишь единичные работы посвящены особенностям кооперативной регуляции нескольких транскрипционных факторов, причем в отечественной литературе сведения о таких взаимодействиях практически отсутствуют.

Данная работа позволяет предполагать, что при бронхиальной астме имеет место дисбаланс в микросетях транскрипционных факторов, участвующих в регуляции межклеточных взаимодействий, что может определять клинические особенности при различных вариантах бронхиальной астмы.

Так считается доказанным участие GATA-3 и T-bet в патогенезе бронхиальной астмы, однако особенности их кооперации до конца не изучены. В то же время не существует единого мнения о роли Foxp3 в формировании брон-

холеговой патологии, а данные о месте с-Maf в развитии бронхиальной астмы представлены единичными публикациями.

В связи с вышеизложенным, представляет научно-практический интерес раскрытие новых иммунологических особенностей патогенеза бронхиальной астмы, что потенциально может привести к открытию новых мишеней для терапии, повышающих эффективность лечения данного заболевания.

Научная новизна исследования и научных результатов.

Диссертационное исследование А.В. Еремеевой является фундаментальной научной работой. Впервые в отечественной пульмонологии было предпринято исследование, целью которого явилось изучение особенностей комплексных взаимодействий нескольких транскрипционных факторов в патогенезе бронхиальной астмы и исследование характера их экспрессии в зависимости от клиничко-патогенетических особенностей бронхиальной астмы.

В работе впервые определена роль Foxp3 в патогенезе бронхиальной астмы и выявлена его связь с клиническими особенностями заболевания и проведено исследование экспрессии мРНК с-Maf в мононуклеарах периферической крови у практически здоровых лиц и больных бронхиальной астмой.

Наиболее важным представляется комплексный научный и клинический подход к оценке взаимного влияния транскрипционных факторов: экспрессия каждого транскрипционного фактора оценивалась в зависимости от варианта бронхиальной астмы, фазы и степени тяжести заболевания. В совокупности с результатами исследования концентраций IFN- γ , IL-4, IL-13, IL-6, IL-17 и иммуноглобулина E полученные данные убедительно свидетельствуют о существовании сложных микросетей транскрипционных факторов, играющих важное значение в патогенезе бронхиальной астмы.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций. В основу работы положены результаты углубленного клиничко-инструментального обследования 129 человек (82 больных бронхиальной астмой и 47 практически здоровых лиц).

Больные были разделены на группы в зависимости от клинко-патогенетического варианта БА (в группу с атопическим вариантом (АБА) вошло 42 пациента, в группу с неатопическим (НАБА) – 40 пациентов) различной степени тяжести.

Общее количество обследованных лиц достаточно для получения статистически достоверных выводов.

Работа состоит из трех основных разделов. Первый содержит подробную клиническую характеристику больных БА и методов исследования. Во втором разделе проведено изучение различных этапов внутриклеточной регуляции транскрипционными факторами (Foxp3, GATA3, T-bet, c-Maf) и внеклеточной регуляции (по концентрации цитокинов и иммуноглобулина E) иммунологических реакций при различных формах БА.

В третьем разделе проводилось обобщение и анализ полученных результатов.

Методы исследований, которые использовал автор, современны и были обеспечены необходимой аппаратурой и реактивами. Работа была выполнена на кафедре госпитальной терапии имени академика М.В. Черноруцкого и на базе лаборатории Научно-Методического Центра по молекулярной медицине ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова МЗ РФ.

Для анализа результатов исследований была сформирована база данных на основе программы SPSS (Statistical Package for the Social Science) русифицированная версия 13.0.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с помощью методов параметрической и непараметрической статистики, что позволило автору максимально точно оценить изменения характера экспрессии транскрипционных факторов Foxp3, GATA3, T-bet и c-Maf при разных вариантах бронхиальной астмы.

Это позволяет говорить о высоком методическом уровне работы и достоверности представленных в диссертации материалов.

Объем выполненного исследования позволил обосновать основные научные положения. Положения, выносимые автором на защиту, достаточно полно обосновываются выводами. Выводы вытекают из поставленных задач и подтверждены приведенными результатами. В своей совокупности выводы и положения позволяют считать, что цель, поставленная автором в исследовании, достигнута в полном объеме.

Практические рекомендации подкреплены полученными результатами, позволяют совершенствовать диагностику БА как основного заболевания с выявлением ведущего иммунного механизма. Личное участие автора на всех этапах не вызывает сомнения.

Ценность для науки и практики выводов и рекомендаций, вытекающих из диссертационного исследования, заключается в том, что полученные автором данные об особенностях межклеточных взаимодействий в патогенезе бронхиальной астмы представляют важную дополнительную информацию, поскольку особенности процессов взаимодействия нескольких транскрипционных факторов и ассоциированных с ними цитокинов позволяют прогнозировать тяжесть заболевания.

Убедительно показана связь изменения экспрессии Foxp3, GATA3, T-bet, c-Maf и степени нарушения контроля клеточной сигнализации, что позволяет наиболее точно охарактеризовать клинические особенности бронхиальной астмы.

Результаты диссертационной работы свидетельствуют о целесообразности исследования экспрессии GATA3 у больных аллергической бронхиальной астмой при отборе больных для возможной таргетной терапии ингаляционным ингибитором GATA3 в диагностически сложных случаях.

Реализация и апробация результатов исследования.

По материалам диссертации опубликовано 13 работ, из них 5 в журналах, входящих в перечень, рекомендованных ВАК, 6 работ в зарубежных изданиях. Судя по названиям работ и по тексту основных статей, полученные результаты

и основные выводы изложены в научных изданиях с исчерпывающей полнотой.

Работа апробирована на многих российских и международных форумах и конференциях. Полученные в диссертации результаты были изложены в докладах на «Булатовских чтениях» (Санкт-Петербург, 2013); на 22-ом Конгрессе ERS (European Respiratory Society) в Вене (Австрия) в 2012 году; на 23 Конгрессе ERS (European Respiratory Society) в Барселоне (Испания) в 2013 году; на 24 Конгрессе ERS (European Respiratory Society) в Мюнхене (Германия) в 2014 году; на 25-м Конгрессе ERS (European Respiratory Society) в Амстердаме (Нидерланды) в 2015 году; на 24-м Национальном Конгрессе по болезням органов дыхания в Москве в 2014 году; на 25-м Национальном Конгрессе по болезням органов дыхания в Москве в 2015 году.

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, www.spb-gmu.ru), а также межклинического аллергологического отделения ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им.акад.И.П.Павлова (197022, СПб, ул. Льва Толстого, д. 6-8, тел. (812) 234-24-75, 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-spbgmu-im.spb24.net>).

Структура и содержание диссертации

Диссертация изложена на 201 странице компьютерного набора, оформлена в традиционном стиле и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственного исследования, обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 9 рисунками и 85 таблицами, облегчающими чтение и понимание ма-

териала. Литературный список 186 источников, в том числе 9 отечественных и 177 зарубежных.

Во введении автор указывает на актуальность проблемы, рассматривает цель и задачи исследования, научную новизну проведенной работы и ее практическую значимость, приводит данные о практической реализации и апробации результатов работы.

В обзоре литературы достаточно подробно и полно отражено современное состояние изучаемой проблемы: освещены фундаментальные вопросы роли транскрипционных факторов Foxp3, GATA3, T-bet и c-Maf в патогенезе бронхиальной астмы, представлены известные сведения о характере их кооперативных взаимодействий, дана характеристика взаимной динамики транскрипционных факторов и ассоциированных с ними цитокинов.

Вторая глава содержит описание используемых в диссертационной работе материалов и методов исследования. Приведенная характеристика выборки больных свидетельствует о ее репрезентативности. Методы исследования и статистической обработки данных современны и адекватны целям и задачам работы.

В третьей главе, посвященной результатам собственных исследований, представлены результаты оценки экспрессии мРНК Foxp3, GATA3, T-bet и c-Maf и исследования концентраций цитокинов транскрипционных факторов и иммуноглобулина E. В главе содержится пять подразделов, первые четыре из которых описывают изменения рассматриваемых транскрипционных факторов в зависимости от варианта бронхиальной астмы, фазы и тяжести заболевания. В пятом подразделе приводятся данные о взаимосвязи уровней IFN- γ , IL-4, IL-13, IL-6, IL-17, иммуноглобулина E и мРНК Foxp3, GATA3, T-bet и c-Maf.

Результаты исследования демонстрируют, что транскрипционный фактор Foxp3 у больных бронхиальной астмой характеризуется значимым снижением экспрессии в сравнении с практически здоровыми лицами. Важное значение имеет наименьшая выраженность экспрессии мРНК Foxp3 у пациентов с тяжелым течением заболевания, что в совокупности с высокими концентрациями

IL-17 и IL-6 указывает на развитие у больных бронхиальной астмой дисбаланса между Foxp3+Treg и Th17 в пользу повышения активности Th17 и снижения Foxp3+Treg клеток.

Автором приводятся данные о том, что каждый из клинко-патогенетических вариантов бронхиальной астмы характеризуется доминированием определенного транскрипционного фактора, цитокинов и типа воспаления. Так для аллергической бронхиальной астмы показано выраженное преобладание экспрессии Th2-ассоциированных транскрипционных факторов GATA3 и c-Maf, связанных с ними цитокинов (IL-4, IL-13) и иммуноглобулина E. В патогенезе неаллергической бронхиальной астмы доминирует роль Th1-связанного транскрипционного фактора T-bet и IFN- γ .

В главе «Обсуждение результатов» автор подробно анализирует и критически осмысливает полученные результаты. Подводя итоги в этой главе, автор приходит к заключению, что при бронхиальной астме имеет место дисбаланс в системах Th1/Th2/Foxp3+Treg и Th17/Foxp3+Treg, что может определять клинические особенности различных вариантов бронхиальной астмы.

Выводы и практические рекомендации, которыми завершается диссертация, логично вытекают из содержания работы и принципиальных возражений не вызывают.

Автореферат изложен на 20 страницах и в полной мере отражает содержание работы.

В ходе рецензирования работы выявлены **замечания**, не снижающие научную ценность проведенного исследования, в числе которых следующие:

1. В тексте встречаются стилистические и орфографические ошибки, есть отдельные опечатки, есть технические ошибки (описка в численности групп больных, неверная нумерация таблицы 3.40, отсутствие комментария к таблице 3.58).

2. Название таблиц выполнено не по ГОСТу Р 7.0.11-2011.

3. В некоторых случаях резюмирующие суждения, не относящиеся к выводам, опираются только на тенденции в динамике изучаемых показателей, а

не на их достоверные статистические изменения (табл. 3.1, 3.59, 3.61), при этом статистическая выкладка представлена.

Указанные замечания не уменьшают ценность проведенного исследования и не влияют на общую положительную оценку диссертации.

При чтении диссертации возникли следующие вопросы к соискателю:

1. В Вашей работе у 50% больных неатопической БА имелись те или иные признаки аллергизации и другие atopические проявления. Почему Вы этих больных не относили к группе с atopической БА?

2. Какие клиничко-патогенетические варианты астмы входили у Вас в группу неатопической БА в процентном соотношении?

3. В Вашем исследовании 44 больных получали парентеральную глюкокортикостероидную (ГКС) терапию. Как эти больные были представлены в процентном соотношении в сравниваемых группах? Влияла ли проводимая системная ГКС-терапия на полученные Вами результаты?

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 завершённым самостоятельным научно-квалификационным исследованием, содержащим решение актуальной научно-практической задачи, имеющей важное значение для пульмонологии – выявление новых иммунологических особенностей различных клиничко-патогенетических вариантов бронхиальной астмы, создающих возможности для повышения эффективности базисной терапии и разработки таргетных лекарственных средств для лечения резистентных и тяжёлых форм заболевания.

По своей актуальности, объёму выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов

представленная диссертационная работа А.В. Еремеевой соответствует требованиям пункта 9 «положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335 предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а автор заслуживает присуждения ей искомой степени по специальности 14.01.25 – пульмонология.

Профессор 1-й кафедры
(терапии усовершенствования врачей)
Федерального государственного бюджетного
военного образовательного учреждения
высшего образования
«Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»
Министерства обороны Российской Федерации
194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, лит. «Ж»
тел. 8 (812) 292-32-06
e-mail: micjul11@yandex.ru
заместитель главного пульмонолога МО РФ
доктор медицинских наук

профессор

Михаил Анатольевич Харитонов

«21» 11 2016 г.

Подпись и контактные данные доктора медицинских наук, профессора
Харитонova Михаила Анатольевича заверяю

«21» 11 2016 г.

ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА
ОТДЕЛА КАДРОВ ВМЕДА
ПОДПОЛКОВНИК МЕДИЦИНСКОЙ СЛУЖБЫ

