

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного бюджетного  
научного учреждения «Научно-исследовательский  
институт фундаментальной и клинической  
иммунологии»

доктор биологических наук,

  
А.Н.Силков

« 13 » 04 2023 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» о научно-практической ценности диссертации Савина Иннокентия Андреевича «Идентификация и валидация генов, регулирующих развитие острых воспалительных изменений в легких и их переход в легочный фиброз», представленной к защите в Диссертационный совет 24.1.242.02 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия

#### **Актуальность диссертационной работы**

Диссертационная работа Савина Иннокентия Андреевича посвящена идентификации, характеристике и валидации ключевых генов, потенциально регулирующих переход острых воспалительных изменений в легких различной этиологии в легочный фиброз. Данная тема без всяких сомнений является актуальной, поскольку распространенность острых воспалительных заболеваний легких неуклонно возрастает. Не в последнюю очередь это связано с пандемией новой коронавирусной инфекции, которая внесла значительный вклад в заболеваемость и смертность от воспалительных заболеваний легких. При этом частым исходом воспаления является его хронизация и переход в легочный фиброз – тяжелое заболевание, сопровождающееся нарушением газообмена и развитием легочной недостаточности. В настоящий момент в отношении фиброза легких нет достаточно эффективных терапевтических агентов, которые бы приводили к полному излечению пациентов, имеющиеся лекарства замедляют прогрессирование заболевания. Единственным радикальным методом лечения остается трансплантация легких, которая возможна далеко не для всех нуждающихся в ней пациентов. Таким образом, поиск биологических маркеров для раннего прогноза тяжелого течения воспалительных заболеваний легких и перехода воспаления в фиброз, безусловно, представляет собой актуальную задачу.

Исследование выполнено в рамках научно-исследовательских программ Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), в том числе в рамках гранта РНФ № 19-74-30011 (Руководитель Власов В.В.).

### **Научная новизна**

В работе Савина Иннокентия Андреевича впервые были идентифицированы гены, играющие потенциальную регуляторную роль при переходе острых воспалительных процессов в легких различной этиологии в легочный фиброз с помощью комплексного биоинформатического анализа. Полученные данные были валидированы на мышинных моделях воспалительных заболеваний легких: ЛПС-индуцированном остром повреждении легких (ОПЛ) и овалбумин (ОВА)-индуцированной астме. В случае ЛПС-индуцированного ОПЛ показано, что гены *Il-6*, *Ccl2*, *Cat*, *Serpine1*, *Eln*, *Timp1*, *Ptx3* и *Socs3* являются ключевыми участниками развития острых воспалительных изменений в легких, поскольку происходит повышение уровней экспрессии данных генов при развитии ОПЛ, в то время как противовоспалительная терапия приводит к подавлению экспрессии данных генов. Впервые было показано, что некоторые ОПЛ-ассоциированные гены (*Saa1*, *Rsad2*, *Ifi44*, *Rtp4*, *Mmp8*) связаны с развитием COVID-19, а на материале от *in vivo* модели ЛПС-индуцированного ОПЛ показано изменение их экспрессии как при развитии острого воспаления, так и при его терапии противовоспалительными соединениями, что указывает на потенциальную регуляторную и таргетную роль данных генов, в том числе и при COVID-19-ассоциированном ОПЛ. Также впервые показана взаимосвязь между уровнями экспрессии ОПЛ-ассоциированных генов *PTX3*, *TIMP1*, *SERPINE1*, *PLAUR* и неблагоприятным прогнозом у пациентов с злокачественными новообразованиями легких.

На модели ОВА-индуцированной острой астмы впервые показано, что морфологические признаки ремоделирования дыхательных путей и легочного фиброза формируются уже на стадии подострого астма-ассоциированного воспаления. Впервые были идентифицированы гены, регулирующие развитие острого астматического воспаления и раннего пост-астматического фиброза (*Timp1*, *Ccl2*, *Igf1*, *Muc5ac*, *Muc5b*, *C3*, *Fnl*, *Cat*, *Cyp2e1*). Впервые показано, что некоторые гены, ассоциированные с легочным фиброзом неастматической этиологии (*Coll1a1*, *Col4a1*, *Col4a2*, *Thbs1*, *Tyropb*) могут являться универсальными пан-фибротическими регуляторами, поскольку уровни экспрессии данных генов возрастали в ткани легких мышей с острой астмой и оставались на повышенном уровне при пост-астматическом фиброзе. Впервые показано, что профиль экспрессии генов при пост-астматическом фиброзе у мышей обладает наибольшим

сходством с профилем экспрессии генов в ткани легких пациентов с идиопатическим легочным фиброзом у людей.

### **Содержание и оформление диссертации**

Диссертация написана в традиционном стиле, состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части (2 глава), результатов и их обсуждения (3 глава), заключения (4 глава), выводов и списка литературы. Работа изложена на 218 страницах машинописного текста, хорошо проиллюстрирована 24 цветными рисунками и 8 таблицами. Прилагаемый библиографический список содержит ссылки на 800 литературных источников, среди которых большая часть представлена работами последних 5 лет (включая 2023 год).

Во введении Савин Иннокентий Андреевич обосновывает выбор темы диссертации, указывая актуальность и степень разработанности темы исследования. Цель работы сформулирована корректно и заключается в идентификации ключевых генов, вовлеченных в развитие легочного воспаления различной этиологии, а также потенциальных молекулярных маркеров перехода от острых воспалительных изменений в легких к легочному фиброзу. Определено 6 объемных задач, соответствующих поставленной цели. Во введении также приведена общая схема исследования, что облегчает общее восприятие работы.

В главе 1 автором изложен обзор литературы по теме диссертации, представленный 6 разделами и заключением. Первый раздел посвящен общей характеристике острого повреждения легких и бронхиальной астмы, которые могут являться причинами развития легочного фиброза, второй раздел посвящен патоморфологической характеристике этих патологических состояний, третий – описанию молекулярных сигнальных путей, задействованных в развитии легочного фиброза, четвертый – характеристике релевантных мышечных моделей острого повреждения легких и легочного фиброза, пятый – прогностическим маркерам тяжести острого повреждения легких и вероятности развития легочного фиброза и шестой – актуальным и перспективным терапевтическим подходам к блокированию перехода острого воспаления в легочный фиброз. Обзор хорошо структурирован и проиллюстрирован. Изложенные современные данные об острых воспалительных процессах в легких и легочном фиброзе позволяют оценить разработанность темы исследования, выбранной автором, и свидетельствуют об актуальности решения задач, представленных в диссертации.

В главе 2 автором подробно описаны материалы и методы исследования. В работе использован широкий спектр современных биологических и биоинформатических подходов, среди которых работа с транскриптомными наборами данных, функциональный

анализ и анализ степени взаимосвязанности, гистохимическое и иммуногистохимическое исследование, твердофазный иммуноферментный анализ, real-time ПЦР с обратной транскрипцией. Полученные автором данные проанализированы с использованием адекватных методов статистического анализа.

В главе 3 представлены результаты исследования и их обсуждение; описан процесс биоинформатического анализа (поиск наборов транскриптомных данных, идентификация дифференциально экспрессированных генов, проведение функционального анализа и оценка степени взаимосвязанности генов в генных сетях, отбор генов потенциальных мастер-регуляторов острых воспалительных процессов в легких и их переход в легочный фиброз); охарактеризованы изменения ткани легких и клеточного состава бронхоальвеолярной жидкости в моделях ЛПС-индуцированного ОПЛ и ОВА-индуцированной астмы и пост-астматического фиброза, а также эффект противовоспалительной терапии на данные показатели (в случае модели ЛПС-индуцированного ОПЛ); описана валидация данных биоинформатического анализа на материале *in vivo* моделей с параллельным обсуждением полученных результатов.

Заключение вынесено в отдельную главу 4, в которой изложены основные итоги исследовательской работы и рассмотрены перспективы дальнейшего исследования. Автором сделано 7 выводов, которые отражают основные результаты исследования.

Текст диссертации практически не содержит ошибок, за исключением нескольких опечаток, которые не влияют на общее положительное восприятие работы.

В ходе прочтения диссертации возник ряд вопросов, которые хотелось бы обсудить в рамках дискуссии:

1. В обзоре подробно изложены плюсы и минусы различных экспериментальных моделей острого повреждения легких и легочного фиброза. Поясните выбор липополисахарида для индукции острого повреждения легких и ОВА – для индукции астмы.
2. Каков, по мнению автора, может быть механизм, обуславливающий связь между указанными ОПЛ-ассоциированными генами (*PTX3*, *TIMP1*, *SERPINE1*, *PLAUR*) и неблагоприятным прогнозом у людей с онкологическими заболеваниями легких?

**Степень обоснованности научных положений, выводов, сформулированных в диссертации, их достоверность**

Цель диссертационного исследования соответствует выбранной теме, выводы соответствуют поставленным задачам. Работа выполнена на хорошем методологическом уровне с использованием современных биоинформатических и биологических подходов.

Высокая достоверность полученных результатов определяется продуманным дизайном исследования, подтверждена воспроизводимостью и согласованностью данных различных методов исследования. Результаты корректно обработаны, интерпретированы с учетом актуальных научных работ в области темы диссертации и в полной мере отражены в выводах и положениях, выносимых на защиту, что определяет высокую степень их обоснованности.

### **Значимость результатов, полученных автором диссертации, для науки и практики**

Полученные результаты позволяют расширить современные представления о механизмах, лежащих в основе развития ОПЛ различной этиологии, а также перехода острого воспаления в легочный фиброз. Идентифицирован ряд генов, которые могут быть рассмотрены в качестве потенциальных молекулярных маркеров и терапевтических мишеней при воспалительных и фибротических изменениях в легких, в том числе вызванных SARS-CoV-2 и опухолевыми заболеваниями легких. Полученные результаты могут быть использованы в качестве теоретической базы при разработке новых подходов стратификации риска развития осложнений, тяжелого течения и отдаленных последствий острых воспалительных процессов в легких у пациентов, а также для разработки методов терапии острых и хронических воспалительных заболеваний легких, позволивших бы повысить качество и общую продолжительность жизни пациентов с данными заболеваниями. *In vivo* модели, использованные в данном исследовании, могут быть рассмотрены в качестве платформы для разработки средств противовоспалительной и антифибротической терапии.

Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с предъявляемыми требованиями. По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования основных научных результатов кандидатских и докторских диссертаций. Результаты работы многократно доложены и обсуждены на научных конференциях.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Савина Иннокентия Андреевича «Идентификация и валидация генов, регулирующих развитие острых воспалительных изменений в легких и их переход в легочный фиброз», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4 Биохимия, является законченной научно-квалификационной работой, решающей актуальную задачу по поиску

новых потенциальных молекулярных маркеров и терапевтических мишеней при острых воспалительных заболеваниях легких и их переходе в легочный фиброз.

Диссертационная работа Савина И.А. по актуальности, научной новизне, практической ценности и достоверности полученных результатов, полноте изложения и обоснованности выводов соответствует требованиям пункта 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждение ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4 Биохимия.

Отзыв на диссертационную работу Савина И.А. заслушан, обсужден и одобрен на совместном заседании лаборатории клеточной иммунотерапии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», протокол № 3 от 13 апреля 2023 г.

Ведущий научный сотрудник лаборатории  
клеточной иммунотерапии НИИФКИ  
доктор медицинских наук

Е.Я.Шевела

Подпись доктора медицинск  
Ученый секретарь НИИФК  
кандидат биологическо

*Васильева*

Е.Д. Гаврилова

Федеральное государственное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)  
630099, г.Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14,  
Тел.+7(383) 222-26-74, факс +7(383) 222-70-28,  
e-mail: [info@niikim.ru](mailto:info@niikim.ru) , Официальный сайт <http://www.niikim.ru>