

## ВІДГУК

### офіційного опонента

доктора медичних наук, професора, Господарського Ігора Ярославовича, доктор медичних наук, професор, завідувача кафедри клінічної імунології, алергології та загального догляду за хворими (ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України") на дисертаційну роботу Скляра Анатолія Івановича на тему: «Клініко-прогностичне значення імунологічних та мікроекологічних показників у хворих на гострий гепатит В», подану у спеціалізовану вчену раду Д 64.618.01 Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія

*Актуальність обраної теми.* Дисертаційна робота Скляра А. І. на тему: «Клініко-прогностичне значення імунологічних та мікроекологічних показників у хворих на гострий гепатит В» присвячена вирішенню важливого наукового завдання на сучасному етапі розвитку медичної галузі, а саме, виявленню імунологічних і мікроекологічних критеріїв прогнозування, що лежать в основі затяжного перебігу ГВ та удосконаленню лікувальної тактики хворих на гострий гепатит В.

На сьогодні вірусні гепатити лишаються однією з глобальних проблем охорони здоров'я. У світі щорічно хворіють на вірусні гепатити десятки мільйонів людей, 1 200 000 до 2 500 000 осіб від гострих вірусних гепатитів (ВГ) та їх наслідків щорічно помирає. Статистика констатує, що у 500 000 пацієнтів з гострими формами перебігу хвороба завершується летально, 100 000 із них помирають у наслідок блискавичних форм гепатитів. В етіологічній структурі вірусних гепатитів, парентеральні, в т.ч., ВГВ, займають домінуюче положення. За оцінкою ВООЗ, більше 1/3 населення світу (2 млрд. людей)

мають серологічні ознаки поточної або перенесеної HBV-інфекції, серед яких приблизно 350 млн. осіб залишаються хронічними носіями вірусу гепатиту В (ВГВ) з різним рівнем вірусної реплікації. Щороку реєструється 4 млн. нових клінічних випадків інфекції. Однак ВООЗ стверджує, що офіційна статистика щодо захворюваності населення на ГВ значно недооцінена і не відображає сучасного рівня HBV-інфекції. Хворі і носії вірусу ГВ мають високу вірогідність розвитку тяжких ускладнень, основними з яких є цироз печінки і гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК). За різними даними щорічно від HBV-асоційованих захворювань вмирає від 780 тис. до 1 мільйона людей [3]. В Україні ситуація щодо парентеральних гепатитів значно загострилась після військового конфлікту на сході Донецької і Луганської областей. Адже в процесі надання медичної допомоги в умовах військових дій значно підвищується вірогідність контакту з інфікованою кров'ю та іншими біологічними рідинами, що призводить до зараження HBV значного контингенту людей. На даний час в Україні відсутні узагальнені дані щодо рівня захворюваності ГВ та його порівняльна тенденція розповсюдженості.

У зв'язку з вищезазначеним, особливої актуальності набуває питання удосконалення заходів нагляду за ранньою діагностикою, розробки нових методів прогнозування перебігу ГВ, контролю його лікування та розширення можливостей терапії.

На шляху вирішення поставленого часом завдання являється важливим всебічне вивчення особливостей імунної відповіді, стану мікроекології товстого кишечника у хворих на ГВ при різному ступеню тяжкості у динаміці захворювання.

У роботі було використано вітчизняний та світовий науковий досвід задля винайдення оптимальних критеріїв прогнозування, що лежать в основі затяжного перебігу ГВ або самообмеження інфекції.

Дослідження, проведене автором з метою удосконалення лікувальної тактики шляхом обґрунтування можливості використання лакто та

біфидовмісного препарату у якості патогенетичної терапії має важливе науково-практичне значення.

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної роботи на базі Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України»: «Мікроекологічні аспекти при різних формах гострих вірусних гепатитів» № держреєстрації 0117U002277. Дисертант є співвиконавцем цієї науково-дослідної роботи, ним проведено клінічне обстеження хворих, організовано лабораторні та інструментальні дослідження, систематизацію отриманих результатів.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Використання сучасних методів досліджень, достатня кількість експериментальних даних, їх статистична обробка та порівняння із даними інших дослідників дозволило Скляру А.І. в дисертаційній роботі обґрунтувати і узагальнити наукові положення, висновки та практичні рекомендації.

При виконанні роботи дисертантом використано сучасні й адекватні з точки зору вирішення поставлених завдань методи досліджень, які ґрунтувались на засадах медичної біоетики та принципах доказової експериментальної медицини. За допомогою клінічних методів проведено спостереження за хворими, інструментальних – УЗД органів черевної порожнини, вірусологічних – визначені маркери НВV-інфекції, імунологічних – клітинні і гуморальні фактори імунітету, мікробіологічних – мікробіоценоз вмісту порожнини товстого кишечника. Для обробки отриманих результатів експериментів використовувалися математико-статистичні методи.

Дисертант особисто та детально проаналізував результати експериментів, провів їх критичне порівняння з даними інших дослідників, чітко і логічно сформулював наукові положення та висновки.

Запропоновані автором практичні рекомендації ґрунтуються на об'єктивних даних результатів досліджень і відображають доцільність їх подальшого застосування у науковій, медичній та навчально-освітній сферах.

Перераховане вище дозволяє оцінити наукові положення, висновки та практичні рекомендації, викладені в дисертаційній роботі Скляра А.І., як цілком обґрунтовані.

*Достовірність і новизна положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.* Достовірність основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих в дисертаційній роботі Скляра А.І., ґрунтується на: достатньому обсязі виконаних експериментальних досліджень; раціональному дизайні дослідження; використанні адекватних і загальноновизнаних методів досліджень для виконання поставлених завдань. Цифрові результати досліджень оброблено у відповідності із правилами альтернативної та рядової варіаційної статистики. Визначено різні статистичні абсолютні та відносні показники: середня геометрична величина, середня арифметична величина, стандартне квадратичне відхилення, критерій достовірності відмінності порівняних величин Ст'юдента.

Викладене вище засвідчує те, що сформульовані в дисертаційній роботі Скляра А.І. основні наукові положення та висновки є достовірними, а практичні рекомендації – обґрунтованими, а їх наукова новизна полягає в наступному.

Дисертантом, вперше досліджено на основі комплексного аналізу показників клітинного та гуморального імунітету, рівнів цитокінової регуляції, стану мікробіоценозу товстого кишечника виявлені кореляційні зв'язки з клінічним перебігом ГГВ та подальшим прогресуванням інфекції. Вперше в Україні показано, що відповідь первинного вродженого клітинного захисту, гуморальних факторів імунітету відрізняється у хворих різного ступеня тяжкості в різні клінічні періоди перебігу гепатиту.

Вперше з'ясовано, що інтенсивність активації компонентів вродженого клітинного захисту, зокрема, фагоцитарної активності поліморфноядерних нейтрофілів і моноцитів, впливає на рівень регуляторних цитокінів. Доведені їх кореляційні взаємозв'язки у хворих різного ступеня тяжкості і в різні періоди хвороби та роль в прогресуванні HBV-інфекції. Виявлені кореляційні

взаємозв'язки між групами досліджуваних цитокінів у хворих на ГГВ у різні періоди захворювання.

Вперше в Україні показано, що у хворих на ГГВ перебіг хвороби протікає на фоні порушень стану мікробіоценозу товстого кишечника різного ступеня. Показано, що у жовтяничному періоді виявлений змішаний варіант стафілококового і кандидозного дисбіозу з подальшим в періоді реконвалесценції превалюванням грибів роду *Candida* на тлі пригнічення популяційного рівня лакто- та біфідобактерій. У сироватці хворих з кандидозним дисбактеріозом було виявлено збільшення титрів IgG до *Candida spp.* у динаміці хвороби.

Вперше визначені додаткові імунологічні та мікроекологічні критерії прогнозування перебігу ГГВ: неускладненого гепатиту або прогресування інфекції з розвитком затяжного перебігу ГВ й можливою подальшою трансформацією в хронічну форму. Показано, що для затяжного перебігу ГВ вже у жовтяничному періоді характерним є помірне підвищення рівнів TNF- $\alpha$  і IFN- $\gamma$ , значне підвищення концентрації IL-8, пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів та моноцитів на фоні зростання титрів IgG до *Candida spp.*, а також підвищення популяційного рівня *Ascomycota* у копрокультурі, з наявністю в крові ДНК HBV, HBsAg, HBeAg та anti-HBc IgM. Встановлені прогностичні критерії виявились універсальними як для легкого так і для середнього ступеня тяжкості гепатиту.

Проведене дослідження виявило доцільність комплексної коригуючої терапії симбіотиком, завдяки підтвердженому результатами аналізів позитивному впливу на стан мікробіоценозу товстого кишечника.

*Практичне значення отриманих результатів.* Визначені імунологічні та мікроекологічні критерії, які з вірогідністю більше ніж 99,95% дозволяють вже у фазі розвитку жовтяниці спрогнозувати затяжний перебіг ГГВ (патент на корисну модель № 131677). Запропоновані критерії є простими та доступними для використання у рутинній клінічній практиці й покликані підвищити ефективність лікувально-профілактичних заходів.

Результати досліджень можуть слугувати обґрунтуванням для введення до комплексного протоколу лікування хворих на ГТВ біфідо- та лактовмісний симбіотик з метою усунення клінічних проявів дисбіозу товстого кишечника, стимуляції клітинної ланки імунітету та як наслідок скорочення термінів перебування в стаціонарі даної категорії хворих.

Розроблені методичні рекомендації «Методи пошуку перспективних штамів мікроорганізмів для розробки пробіотичних та метабіотичних препаратів», Київ, 2016 р., впровадження яких в практику охорони здоров'я України сприятиме створенню перспективних пробіотичних культур-антагоністів, з відповідними параметрами впливу на імунні фактори.

Створено авторську колекцію культур дріжджеподібних грибів роду *Candida spp.* та представників *Ascomycota*. Колекція нараховує 12 штамів, зберігається у Музеї мікроорганізмів ДУ «ІМІ НАМН» та використовується при виконанні планових науково-дослідних робіт.

Наукові положення дисертації впроваджено у навчальний процес кафедр мікробіології, вірусології та імунології Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 15.12.2016 р.), патологічної анатомії Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 23.12.2016 р.), лабораторію протимікробних засобів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» (акт впровадження від 07.02.2017 р.), практичну діяльність Харківської обласної клінічної інфекційної лікарні (акт впровадження від 10.01.2017 р.).

**Повнота викладу сформульованих у дисертації наукових положень, висновків і рекомендацій в опублікованих працях і авторефераті.** Результати досліджень, основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації кандидатської дисертації Скляра А.І. оприлюднено й обговорено на 14 наукових форумах (з'їздах і конференціях), опубліковано 23 наукові праці, у тому числі 7 статей (5 - у фахових виданнях України, 2 – у міжнародних виданнях, 1 – включено до наукометричних баз), 1 патент на корисну модель, 1 методичні рекомендації, 14 теза у матеріалах конференцій, конгресів, з'їздів.

У матеріалах дисертації після викладення наукових результатів кожного її розділу автором представлено перелік власних робіт, в яких ці результати опубліковано.

Автореферат дисертаційної роботи Скляра А.І. викладено (на 26 сторінках машинописного тексту, містить 5 рисунків і 1 таблицю) з дотриманням вимог МОН України. Автореферат складається із загальної характеристики дисертаційної роботи, основних положень змісту кожного її розділу з результатами досліджень та їх аналізом, висновків, практичних рекомендацій, списку опублікованих праць, анотацій українською та англійською мовами. Матеріали автореферату є ідентичними дисертації, досить ґрунтовно розкривають основні її положення та дозволяють сформулювати повне уявлення про дисертаційну роботу в цілому.

Вказане вище, дозволяє визначити, що опубліковані праці автора та автореферат повною мірою розкривають основні наукові положення, висновки та рекомендації дисертаційної роботи.

**Структура, зміст і завершеність дисертаційної роботи.** Кандидатська дисертація Скляра А.І. викладена на 187 сторінках машинописного тексту і складається із анотації, списку друкованих праць, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, 5 розділів власних досліджень, висновків та практичних рекомендацій, проілюстрована 27 таблицями, 12 рисунками. Список використаних літературних джерел містить 296 посилань.

У вступі лаконічно та переконливо обґрунтовано актуальність для медичної галузі вирішення задачі розробки додаткових критеріїв прогнозування перебігу НВV-інфекції на підставі вивчення клініко-імунологічних, молекулярно-генетичних і мікробіологічних показників та удосконалення діагностичної і лікувальної тактики. Висвітлено зв'язок роботи з науково-дослідними темами, сформульовано мету, визначено завдання дослідження для її досягнення, окреслено об'єкт та предмет дослідження, розкрито наукову новизну, теоретичне та практичне значення отриманих результатів, наведено

дані щодо апробації й опублікування результатів, а також відомості про обсяг і структуру дисертації.

**Розділ 1. *Огляд літератури*** складається з 5 основних підрозділів, у яких досить глибоко та критично проаналізовано сучасний стан знань щодо: клініко-патогенетичних особливостей ГГВ, особливостей вродженої імунної відповіді на HBV-інфекцію, висвітлено характеристику й роль основних регуляторних цитокінів та мікроекологічних порушень товстого кишечника у хворих на HBV-інфекцію. Розглянуто досвід застосування пробіотичних та симбіотичних препаратів як імуномодуляторів.

**Розділ 2. *Матеріали та методи*** складається з 2 підрозділів. Методологія та методика дослідження ґрунтувалась на засадах медичної біоетики та принципах доказової експериментальної медицини. Розроблений дизайн дослідження є доцільним і раціональним. Використовувалися наступні сучасні методи дослідження: клінічних (обстежено 108 хворих на ГГВ), етіологічну верифікацію здійснювали виявленням у сироватці специфічних серологічних маркерів ГВ (HBsAg, HBeAg, anti-HBc IgM, методом ІФА) та методом ПЛР за допомогою тест-систем виробництва НВФ “Литех” (РФ), імунологічні (визначення активності фагоцитозу, рівнів TNF- $\alpha$ , IL-8, IFN- $\alpha$  і IFN- $\gamma$  у сироватці крові та вмісту IFN- $\alpha$  і IFN- $\gamma$  у копрофільтратах використовували тест-системи НВО «Вектор БЕСТ» (РФ)), мікробіологічні (дослідження видового складу та популяційного рівня мікрофлори товстої кишки проводилися за загальноприйнятою методикою з визначенням ступеня дисбіотичних порушень за Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В.). Для обробки отриманих результатів експериментів використовувалися математико-статистичні методи.

Повнота викладення автором методів досліджень, дизайн дослідження, підбір груп хворих є цілком достатнім для оцінки їх актуальності, доцільності та сучасності, обґрунтованості вибору з точки зору виконання поставлених завдань, забезпечення якості проведення експериментів та можливості їх відтворення.



**Розділ 3. Клінічні, клініко-лабораторні, серологічні та вірусологічні особливості обстежених хворих** містить важливі дані отримані дисертантом. Автором показано, що біохімічні показники не мали статистичної різниці у групах спостереження. Тоді як клінічні симптоми у жовтяничному періоді у хворих, які мали затяжний перебіг гепатиту були значно тривалішими. У всіх хворих з подальшим розвитком затяжного перебігу ГВ виявлені дисбіотичні порушення мікрофлори товстого кишечника різного ступеня. Автором зроблено висновок, що вчасна активація компонентів вродженого захисту сприяє подальшому розгортанні енергійної, специфічної клітинної імунної відповіді, спрямованої на декілька вірусних антигенів (HBsAg, HBcAg, HBeAg), що приводить до елімінації HBV та самообмеження інфекції. На противагу, наявність відносно слабкої, вродженої імунної відповіді не в змозі контролювати реплікацію HBV, що призводить до сповільнення сероконверсії HBsAg і прогресування хвороби більше 3-6 міс.

**Розділ 4. Показники імунної відповіді** складається з 4 підрозділів, в яких викладено основні результати досліджень автора. Автором встановлено, зв'язок між активацією первинної клітинної ланки імунітету та продукцією медіаторів імунної відповіді. Показано своєрідний дисбаланс первинного клітинного захисту та активація гуморальної ланки імунітету у хворих на ГГВ, що супроводжується гіперпродукцією імунних медіаторів. Також показано, що імунні порушення при ГГВ суттєво відрізняються у хворих легкого та середнього ступеня тяжкості в різні клінічні періоди хвороби, причому характерною ознакою для хворих легкого ступеня тяжкості в жовтяничному періоді ГГВ є посилена активація фагоцитарної системи. Що стосується фагоцитарної активності моноцитів, то вона пригнічується не залежно від ступеня тяжкості перебігу ГГВ. Одночасно відбуваються зміни і в цитокиновому статусі, які характеризуються гіперпродукцією TNF- $\alpha$  і IL-8 у хворих як легкого так і особливо середнього ступеня тяжкості. Збільшуються рівні IFN- $\alpha$  та IFN- $\gamma$  у сироватці крові та вміст IFN- $\gamma$  у копрофільтратах хворих на ГГВ.

**Розділ 5. Дослідження мікробіоценозу вмісту порожнини товстого кишечника у хворих на гострий гепатит В** складається з 3 підрозділів, де викладено результати дослідження мікроекологічних порушень порожнини товстого кишечника. Автором встановлені дисбіотичні порушення у вмісті порожнини товстого кишечника різного ступеня, що не залежать від тяжкості хвороби, у 96,3% хворих на ГГВ. Визначено, що основною причиною дисбіотичних порушень кишкової мікрофлори є вегетування *Staphylococcus spp.* і *Candida spp.* на тлі пригнічення біфідо- та лактофлори, зі значним зростанням контамінації товстого кишечника грибами роду *Candida* в періоді реконвалесценції. Кандидозний дисбіоз супроводжується продукцією IgG до *Candida spp.* у зростаючих титрах.

**Розділ 6. Визначення ефективності корекції симбіотичним препаратом мікроекологічних та імунологічних порушень у хворих на ГГВ** складається з 2 підрозділів, де викладено результати дослідження включення біфідо- та лактовмісного симбіотика у комплексну терапію. Автор вказує на те, що у групі хворих, де додатково було застосовано симбіотик, відбувалось відновлення аутохтонної мікрофлори, що сприяло зниженню ступеня дисбіотичних розладів, на відміну від хворих, які перебували на базисному лікуванні. Включення симбіотика до базисної терапії зменшувало долю хворих, які перевищували стандарти перебування в стаціонарі на 29,6%.

**Розділ 7. Прогностичні критерії перебігу ГГВ на основі комплексного аналізу імунологічних, мікробіологічних та вірусологічних показників** містить всебічний аналіз отриманих результатів, на основі яких, автор визначає критерії придатні для раннього прогнозування затяжного перебігу ГГВ: для затяжного перебігу ГГВ виявилися характерними вже у жовтяничному періоді помірне підвищення рівнів TNF- $\alpha$  і IFN- $\gamma$ , значне підвищення концентрації IL-8, пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів та моноцитів; наявність ДНК HBV, HBsAg, HBeAg, і відсутність сероконверсії HBsAg в крові на фоні зростання титрів IgG до *Candida spp.*, а також підвищення популяційного рівня *Ascomycota* у копрокультурі.

**Висновки** (їх 8) включають стисле формулювання здобувачем наукових узагальнень і обґрунтування принципів визначення критеріїв раннього прогнозування затяжного перебігу ГТВ та включення у комплексну терапію біфідо- та лактовмісного симбіотика. Висновки сформульовані чітко та зрозуміло, їх послідовність і зміст логічно відображає завершеність дисертаційної роботи.

**Практичні рекомендації.** Результати дисертаційної роботи Скляра А.І. мають науково-прикладне спрямування: удосконалення принципів виявлення і розробки імунологічних і мікроекологічних критеріїв прогнозування, що лежать в основі затяжного перебігу ГВ та удосконалення лікувальної тактики хворих на гострій гепатит В; використовуються у навчально-педагогічному процесі на кафедрах мікробіології, вірусології та імунології та патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, у науково-дослідній роботі Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України», практичній діяльності Харківської обласної клінічної інфекційної лікарні.

**Список використаних джерел** викладено після відповідних розділів із дотриманням чинних бібліографічних вимог МОН України. Список складено у порядку появи посилань у тексті. Всього в списку 296 джерел, у тому числі: 275 латиною та кирилицею. Близько 80% використаних джерел опубліковані за останні 10 років.

**Додатки**, які представлено на 13 сторінках, містять копії титульних аркушів актів впровадження результатів дисертаційної роботи Скляра А.І., патенту України, апробацію результатів роботи та опубліковані наукові праці здобувача за темою дисертації.

**Зауваження щодо змісту дисертації.** Суттєвих зауважень до змісту дисертації немає. Щодо оформлення дисертації, варто було б скоротити розділ огляду літератури, зокрема зменшивши аналіз інформації, присвячений впливу імунотропному пробіотиків у хворих з гострими кишковими інфекціями, оскільки спектр імунологічних розладів у хворих на кишкові інфекції та гострі

гепатити суттєво відрізняється, а тому не складає наукового інтересу у плані порівняння.

З метою кращої наглядності на рисунках варто було б середнє відхилення показати у графічній формі – це суттєво покращило б сприйняття даних з погляду наявності чи відсутності достовірної різниці..

У той же час, у таблицях, з цією ж метою достовірність різниці краще вказувати не в абсолютних величинах, наприклад:  $p=0,04$ , а у порівнянні з межею достовірності, наприклад:  $p<0,05$ .

Перелічені зауваження жодним чином не зменшують цінності і наукової новизни проведеного дослідження. Значна частина рекомендацій була врахована дисертантом у процесі рецензування наукової роботи.

***Перелік і суть запитань:***

1. Чому не вивчали вплив на імунологічні механізми монопребіотика лактульози, який є в клінічних рекомендаціях багатьох країн щодо лікування ГГВ.

2. Чому Ви зупинили вибір саме на симбіотиках для корекції імунологічних розладів?

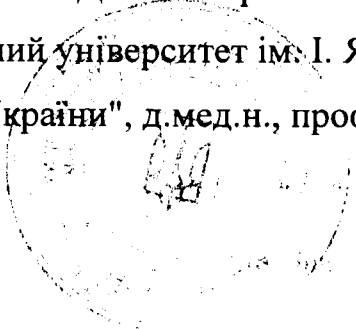
3. Чому вибрали саме біфілакт екстра серед усього розмаїття про-, пре- і симбіотиків?

***Висновок щодо відповідності дисертаційної роботи встановленим вимогам.*** Кандидатська дисертація Скляра Анатолія Івановича на тему: «Клініко-прогностичне значення імунологічних та мікроекологічних показників у хворих на гострий гепатит В», є актуальною, самостійною, завершеною науковою працею, виконаною на сучасному науково-методичному рівні. Робота містить нові експериментальні дослідження та науково обґрунтовані узагальнення, які у сукупності вирішують важливу наукову задачу в галузі імунології – підвищення ефективності прогнозування перебігу ГГВ та удосконалення лікування HBV-інфекції.

*Оцінка мови та стилю дисертації.* Дисертація та автореферат написані грамотною мовою, стиль викладу матеріалів досліджень, наукових положень, висновків і рекомендацій чіткий, логічний, що забезпечує легкість і доступність їх сприйняття.

Дисертаційна робота Скляра А.І. цілком відповідає вимогам щодо кандидатських дисертацій, які визначено п. 11-13 "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 із змінами, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

Завідувач кафедри клінічної імунології,  
алергології та загального догляду  
за хворими ДВНЗ "Тернопільський державний  
медичний університет ім. І. Я. Горбачевського  
МОЗ України", д.мед.н., проф.



І.Я. Господарський