

ВІДГУК
офіційного опонента
доктора медичних наук, професора
КУРЧЕНКА АНДРІЯ ІГОРОВИЧА,
завідувача кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної
генетики Національного медичного університету імені О. О. Богомольця
на дисертаційну роботу
СКЛЯРА АНАТОЛІЯ ІВАНОВИЧА
на тему: «Клініко-прогностичне значення імунологічних та мікроекологічних
показників у хворих на гострий гепатит В»,
подану до офіційного захисту до спеціалізованої вченої ради 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 теми дисертаційної роботи. Вірусні гепатити є глобальною проблемою медицини, серед яких гепатит В (ГВ) залишається одним із найбільш розповсюджених вірусних захворювань сучасності. За даними ВООЗ біля 2 млрд. популяції людей у світі інфіковані HBV. У 350 млн. осіб сформувалася хронічна HBV-інфекція, найбільш тяжкими наслідками якої є цироз печінки (ЦП) і гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК). Щороку інфікуються біля 4 млн. осіб та помирають від HBV-асоційованих захворювань більше 800 тис. інфікованих. Україна входить до переліку країн з підвищеним рівнем захворюваності.

На зазначеному тлі зростає усвідомлення ролі та значимості парентеральних гепатитів, що окреслені умовами та наслідками військового конфлікту на сході Донецької і Луганської областей. Спричинені потужним впливом факторів біологічного походження, зазначена група інфекційних гепатитів демонструє тяжкий перебіг, широкий спектр ускладнень, нерідко трагічний фінал. Останнє обумовлює беззаперечну актуальність проблемі дослідження зазначеного феномену, надає зрозумілого сенсу спробам детального вивченні структурної складової клінічного симптомокомплексу вірусного гепатиту, ґрунтового дослідження його природи, у решті решт, унеможливлення розвитку найбільш загрозливих ускладнень. З іншого боку, цікавим дослідницьким моментом залишається питання протидії збудникам вірусних гепатитів, зокрема, імунної домінанти.

Імунна система господаря відіграє головну роль в протидії HBV. В її основі лежать багаторівневі взаємодії між вродженою та адаптивною системами

імунітету, які відповідають, як за розвиток патогенезу захворювання так і елімінацію вірусу визначаючи подальший перебіг інфекції. На теперішній час роль імунної системи як першої лінії захисту організму від вірусної агресії є безсумнівним. Вона посідає головне місце у контролі та адаптації. На думку фахівців (Голубовська О. А. та спів., 2014), власне, гепатит В є хворобою імунної відповіді. З огляду на імунні механізми, що координують прогресування хвороби та подальший розвиток затяжного перебігу з можливою хронізацією процесу, стає зрозумілим взаємозв'язок між реактивністю імунної системи хазяїна та декомпенсованими формами гепатитів. Віруспецифічні CD8+ Т-клітини не здатні до знищення вірусу і цим самим ініціюють ускладнений сценарій патогенетичної картини захворювання. У зазначеному двобої суттєвої допомоги надають сучасні лікарські засоби, що здатні до активного пригнічення реплікації HBV і сприяння процесам відновлення. Великий інтерес викликають питання вірогідності активації вроджених клітинних компонентів неспецифічного захисту у складі фагоцитарної системи за умов HBV-інфекції, її можливий вплив на цитокінову регуляційну мережу. Існує безліч білих плям щодо питань ініціації реакцій вродженого імунітету, подальшого вивчення первинних факторів реагування на вірусні патогени. Назріли передумови для перегляду поглядів та концепцій щодо ролі первинних факторів у формуванні цілісної імунної відповіді у форматі розвитку гострої вірусної інфекції. Цікавою, з точки зору дослідницького інтересу, є клінічна антологія порушень біоценозу товстого кишківника різного ступеня тяжкості у хворих на гострі гепатити. Проблемними залишаються окремі аспекти мікро екології кишкового тракту та їхній зв'язок із змінами у імунному статусі хворих на вірусний гепатит. Відсутніми до тепер залишаються об'єктивні прогностичні критерії хвороби та критерії якості отриманої терапії. Важливою проблемою є підвищення ефективності застосовуваних пробіотиків як потенційного регулятора імунної відповіді при вірусних інфекціях (з огляду на відомості щодо їхнього природного імуномодулюючого потенціалу та можливість активації місцевого імунітету з подальшим підвищенням загальної резистентності організму в процесі перебігу гострого вірусного гепатиту В). Зрозуміло, що саме таким чином можна сприяти само елімінації вірусу гепатиту В.

Вищевикладене підтверджує, що ГВ є однією з актуальних і невідкладних проблем сучасної медицини і наразі потребує удосконалення заходів нагляду за ранньою діагностикою, розробки нових методів прогнозування перебігу хвороби, контролю за лікуванням ГВ та розширення можливостей терапії. Сучасні способи лікування здатні тільки пригнічувати реплікацію вірусу гепатиту В і в більшості випадків не призводять до елімінації збудника

засвідчуючи те, що серед найбільш складних питань сучасної імунології та інфектології є лікування хворих на HBV-інфекцію.

Зв'язок теми дисертації з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України», «Мікроекологічні аспекти при різних формах гострих вірусних гепатитів» № держреєстрації 0117U002277, термін виконання 2017-2019 рр. Дисертант є співвиконавцем цієї науково-дослідної роботи, ним проведено клінічне обстеження хворих, організовано лабораторні та інструментальні дослідження, систематизацію отриманих результатів.

Наукова новизна та теоретичне значення одержаних результатів. До найважливіших досягнень роботи дисертанта, безумовно, слід віднести виявлені імунологічні та мікроекологічні показники у хворих на ГГВ, що корелювали з клінічним перебігом ГГВ та подальшим прогресуванням інфекції. Вперше здійснений цілісний комплексний аналіз показників клітинного та гуморального імунітету, рівнів цитокінової регуляції, стану мікробіоценозу товстого кишечника, що послужило теоретичним підґрунтям вибору додаткових імунологічних та мікроекологічних критерії прогнозування розвитку прогресування інфекції з можливою подальшою трансформацією в хронічну форму. Науково цінним є те, що обрані критерії виявились інформативними вже у жовтяничному періоді хвороби.

Автором вперше показано, що відповідь первинного вродженого клітинного захисту, гуморальних факторів імунітету відрізняється у хворих різного ступеня тяжкості в різні клінічні періоди перебігу гепатиту, а інтенсивність активації компонентів вродженого клітинного захисту, зокрема, фагоцитарної активності поліморфноядерних нейтрофілів і моноцитів, впливає на рівень регуляторних цитокінів.

Доповнено наукові дані щодо клініко-лабораторних особливостей перебігу гепатиту у хворих різного ступеня тяжкості. Автором показано, що вчасна активація компонентів вродженого захисту сприяє подальшому розгортанні енергійної, специфічної клітинної імунної відповіді, спрямованої на декілька вірусних антигенів, що приводить до елімінації HBV та самообмеження інфекції.

Автором науково обґрунтовано включення біфідо- та лактової симбіотики у комплексну терапію хворих на ГГВ, що стимулює клітинні і гуморальні фактори місцевого імунітету та сприяє зниженню ступеня дисбіотичних розладів.

Практичне значення результатів дослідження.

Основним результатом даного дослідження є визначення клініко-прогностичних критеріїв, що з вірогідністю більше ніж 99,95% дозволяють вже у фазі розвитку жовтяниці спрогнозувати затяжний перебіг ГГВ (патент на корисну модель № 131677). Автором доведена доцільність комплексного імунологічного обстеження та визначення видового складу та популяційного рівня представників мікробіоценозу товстого кишечника у хворих на ГГВ у жовтяничному періоді.

На підставі проведених досліджень розроблені практичні рекомендації щодо доповнення базисної терапії ГГВ лакто- та біфідовмісним симбіотиком, що сприяє усуненню клінічних проявів дисбіозу товстого кишечника, стимуляції клітинної ланки імунітету та як наслідок скорочення термінів перебування в стаціонарі даної категорії хворих.

Для дослідників, які займаються розробкою пробіотичних препаратів видані методичні рекомендації «Методи пошуку перспективних штамів мікроорганізмів для розробки пробіотичних та метабіотичних препаратів», Київ, 2016 р., що впроваджені в практику системи охорони здоров'я України.

Авторська колекція культур дріжджеподібних грибів роду *Candida spp.* та представників *Ascomycota*, вилучених від хворих на ГГВ, використовується при виконанні планових науково-дослідних робіт у ДУ «ІМІ НАМН».

Результати дослідження впроваджені у практичну діяльність лікувальних та наукових закладів Харківської області та міста Харкова: Харківську обласну клінічну інфекційну лікарню, кафедру мікробіології, вірусології та імунології Харківського національного медичного університету, кафедру патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, лабораторію протимікробних засобів ДУ «ІМІ НАМН».

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Текст дисертаційної роботи Скляра А.І. дає підстави зробити висновок, що у дослідженні використано сучасні методи, достатня кількість експериментального матеріалу, проведена його ретельна статистична обробка та порівняння із даними інших дослідників. Це дозволило Скляру А.І. виконати ґрунтовну роботу на високому науково-методичному рівні, отримати і узагальнити наукові положення, обґрунтувати висновки, надати практичні рекомендації.

З метою реалізації поставленої мети та розв'язання комплексу практичних завдань дисертант використав сучасні клінічні, імунологічні, лабораторні, вірусологічні, мікробіологічні методи дослідження, адекватні з точки зору вирішення проблеми в цілому та окремих її аспектів зокрема. Ґрунтовність зазначеної методологічної платформи пов'язана із засадами консенсусу з

медичної біоетики та принципами доказової медицини. Дисертація долучає широкий спектр методів і прийомів, що доповнюють один одного і надають образ цілісного, комплексного підходу у розв'язанні поставлених завдань.

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 раціональному розподілі пацієнтів на групи, достатньому обсязі виконаних клініко-імунологічних досліджень, використанні адекватних і загальновизнаних методів дослідження. Цифрові результати досліджень оброблено у відповідності із правилами альтернативної і рядової варіаційної статистики. За допомогою коефіцієнта діагностичної цінності визначено формулу імунних порушень, рейтинговий алгоритм відхилень імунних показників та ступень імунних порушень. Викладене вище засвідчує те, що сформульовані у дисертаційній роботі Скляра А.І. основні наукові положення і висновки є достовірними, а практичні рекомендації – обґрунтованими.

Повнота викладу сформульованих у дисертації наукових положень, висновків і рекомендацій в опублікованих працях і авторефераті.

Результати досліджень, основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації, що висвітлюють основні аспекти кандидатської дисертації Скляра А.І., оприлюднені і обговорені на науково-практичних конференціях, конгресах та пленумах, зокрема на науково-практичній конференції “Сепсис, патогенез, діагностика та терапія” (Харків, 2004 р.), науково-практичній конференції і пленуму “Вірусні хвороби. Токсоплазмоз. Хламідіоз” (Тернопіль, 2004 р.), всеукраїнській наук.- практичній конф. з міжнародною участю “Сучасні досягнення молодих вчених на допомогу практичній медицині” (Харків, 2006 р.), наук.- практичній конф. з міжнародною участю “Хвороби печінки в клінічній практиці” (Харків, 2009 р.), наук.- практичній конф. і пленумі Асоціації інфекціоністів України (Львів, 2009 р.), XIV з'їзді мікробіологів, епідеміологів та паразитологів (Харків, 2010.), наук.- практичній конф. за участю міжнародних спеціалістів “Стратегія і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями” (Харків, 2012 р.), наук.- практичній конф., присвяченій пам'яті академіка Л.В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України» “Інфекційні хвороби сучасності. Біологічна безпека та біозахист” (Київ, 2016 р.), міжнародній наук.- практичній конф. присвяченій пам'яті професора В.П. Голіка “Сучасні погляди на актуальні питання теоретичної, експериментальної та практичної медицини” (Харків, 2016 р.), IV всеукраїнській наук. конф. студентів та молодих вчених з фізіології з міжнародною участю “Фізіологія-медицині,

фармації та педагогіці; актуальні проблеми та сучасні досягнення” (Харків, 2017 р.), XV з’їзді товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (Одеса, 2017 р.), material of international research and practice conference “Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine” (Lublin, Republic of Poland, 2017 р.), наук.- прак. конф. за участю міжнародних спеціалістів, присвяченої 130-річчю ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» “Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація)” (Харків, 2017 р.), наук.- прак. конф. з міжнародною участю “Ювілейні терапевтичні читання. Клінічна та профілактична медицина: досвід нові напрямки розвитку”, присвяченої 100-річчю від дня народження академіка Л.Т. Малої (Харків, 2019 р.).

Публікації представлені в достатньому обсязі. За матеріалами дисертації опубліковано 23 наукові праці, серед них 7 статей (5 - у фахових виданнях України, 2 – у міжнародних виданнях, (1 – включено до наукометричних баз), 1 патент на корисну модель, 1 методичні рекомендації та 14 тез доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій, з’їздів, пленумів у тому числі, 1 за кордоном.

Анотує викладено у відповідності з діючими вимогами. В ньому ґрунтовно розкрито зміст дисертації, приведені фактичні результати, висновки та практичні рекомендації дослідження, наведено перелік друкованих праць, анотації українською та англійською мовами. Матеріали анотує є ідентичними дисертації, досить ґрунтовно розкривають основні її положення та дозволяють сформувати повне уявлення про дисертаційну роботу в цілому.

Структура, зміст і завершеність дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота Скляра А.І. викладена на 196 сторінках машинописного тексту за загальноприйнятою формою і включає анотацію, вступ, огляд літератури, об’єкт та методи дослідження, п’ять розділів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки і практичні рекомендації. Список використаних джерел містить 301 посилань кирилицею і латиною. Матеріали дисертації ілюстровані 28 таблицями та 13 рисунками.

У вступі достатньо аргументовано представлено актуальність обраної теми дисертаційної роботи, визначено мету, задачі, об’єкт і предмет дослідження. Приведені наукова новизна і практичне значення одержаних результатів дають підстави стверджувати, що роботу цілком правомірно можливо віднести до дисертацій, де постановочні задачі успішно вирішуються з їх теоретичним узагальненням і практичною реалізацією.

У огляді літератури здобувачем освітлено сучасний стан знань, щодо клініки, діагностики, прогнозу, особливостей патогенезу гострого вірусного гепатиту В; проведено аналіз даних літератури щодо різноманіття клінічних

форм вірусного гепатиту В; представлено сучасний погляд на клініко - прогностичні схеми; проаналізовано існуючі системи прогнозу ризику ускладнень за гострим вірусним гепатитом В. Загальний обсяг огляду літератури відповідає діючим вимогам.

У другому розділі дисертаційної роботи наведено загальну характеристику хворих на ГГВ, які відібрані за визначеними критеріями для дослідження, вказані застосовані для вирішення поставленої мети методи дослідження, критерії постановки діагнозу. Розділ завершується описом сучасних методів статистики, використаних автором, що обґрунтовують вірогідність отриманих результатів та висновків.

Розділ 3 дисертаційної роботи містить результати клінічних, клініко-лабораторних, серологічних та вірусологічних особливостей обстежених хворих. У хворих середнього ступеня тяжкості клінічні симптоми гепатиту були більш тривалішими та інтенсивнішими порівнюючи з особами легкого ступеня тяжкості. Основні біохімічні показники не мали статистичної різниці у хворих різного перебігу гепатиту В.

У 4 розділі представлені дані щодо показників імунної відповіді.

Автором показано, що показники фагоцитарної активності нейтрофілів і моноцитів, рівні медіаторів імунної відповіді відрізняються у хворих на ГГВ у жовтяничному періоді та періоді реконвалесценції і корегують зі ступенем тяжкості хвороби. У хворих легкого ступеня тяжкості у фазу розпалу HBV-інфекції встановлено значну активацію нейтрофілів в протигагу хворим середнього ступеню тяжкості у яких було значне зниження фагоцитарної активності клітин. У періоді реконвалесценції показники ФАН у хворих легкого перебігу зберігається на підвищеному рівні, про що свідчать збільшені рівні ФІН і ФЧН в усіх часових періодах вивчення фагоцитозу. На відміну від хворих середнього ступеня тяжкості у яких інтенсивність фагоцитозу нейтрофілів залишається зниженою на фоні підвищення показників ФЧН. У хворих на ГГВ у різні періоди перебігу фагоцитарна активність моноцитів пригнічується. Характерним для HBV-інфекції є своєрідний цитокіновий дисбаланс. З гіперпродукцією TNF- α , IL-8, підвищенням рівнів IFN- α і IFN- γ у сироватці крові та вмісту IFN- γ у копрофільтратах хворих на ГГВ. У періоді реконвалесценції у хворих легкого ступеня тяжкості нормалізується рівень TNF- α , але залишається підвищеним рівень IL-8. У хворих середнього ступеня тяжкості залишаються високі рівні TNF- α і IL-8. В усіх хворих у сироватці крові відбувається зниження рівнів IFN- α й зростає вміст IFN- γ . Збільшуються рівні IFN- α і IFN- γ у копрофільтратах та підвищується концентрація sIgA. Встановлений кореляційний зв'язок між ФАН і ФАМ і продукцією цитокінів.

У 5 розділі представлені дані щодо

У 6 розділі

У 7 розділі

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» містить ретельний аналіз результатів проведеного дослідження і даних літератури. Дисертантом проведено детальне співставлення власних результатів дослідження з даними інших науковців. За результатами аналізу та узагальнення даних своїх досліджень, автор формулює основне положення дисертаційної роботи щодо клініко - прогностичного значення імунологічних та клініко – прогностичних показників у хворих на гострий гепатит В.

Висновки включають стисле формулювання здобувачем наукових узагальнень, які в сукупності повною мірою відображають теоретичні та практичні результати роботи і вирішення завдання щодо перспектив застосування імунологічних та клініко – прогностичних показників у хворих на гострий гепатит В у об'єктивізації прогнозу ризику розвитку ускладнень останнього. Висновки сформульовано чітко і зрозуміло, їх послідовність та зміст логічно відображає завершеність дисертаційної роботи.

Практичні рекомендації. Застосування результатів дисертаційної роботи Скляра А.І. мають прикладні спрямування: поглиблюють знання щодо конкретних аспектів розвитку патогенетичного сценарію гострих гепатитів В, клінічного перебігу хвороби, найбільш доцільних, доказових методів діагностики останньої. З метою підвищення ефективності клінічного прогнозу ризиків розвитку ускладнень за гострими вірусними гепатитами В дисертантом запропоновано схему моніторингу прогностичних показників, що дозволяє створити адекватний комплекс терапії, об'єктивно оцінити ефективність її проведення та зменшити частоту рецидивів захворювання. Автор пропонує акцентувати увагу на дослідження фагоцитарної активності нейтрофілів і моноцитів, видового складу, популяційного рівня мікрофлори товстого кишківника як маркерів своєчасної корекції лікування HBV – інфекції, ним запропоновані критерії адекватної імунної відповіді організму хворих, рекомендоване визначення контамінованості товстого кишківника *Candida spp.* з огляду на показники концентрації, титрів Ig G. Матеріали дисертаційної роботи Скляра А.І. використовуються у шпитальній практиці, навчально-педагогічному та науковому процесах на кафедрах, лабораторіях медичних ВНЗ, НДІ України.

У дисертаційній роботі вірно та раціонально підібрані критерії оцінки прогнозу ризиків виникнення ускладнень у хворих на гострі вірусні гепатити В.

Диссертант застосував сучасний, широкий та клінічно- доцільний спектр методів дослідження. Добре висвітлена статистична обробка даних та наглядно проілюстровано ступінь відхилення (t-критерій) показників імунного стану у хворих від показників контрольної групи.

Зауваження щодо змісту дисертації.

Звертає увагу занадто детальний опис деякі загальновідомих методів дослідження. Автор у окремих реченнях вдається до застосування перекладацької кальки, русизмів («наступні положення», «на фоні», таке інше), подекуди мають місце стилістичні недоречності. Але зазначене не усуває значимості виконаної роботи, її науково - дослідницького сенсу.

Позитивно оцінюючи здобутки дисертанта, у рамках наукової дискусії, бажано було б мати відповідь пошукувача на наступні запитання:

1. Чому серед вроджених компонентів імунного захисту Ви зупинилися на дослідженні фагоцитарних реакцій нейтрофілів і моноцитів при ГГВ?
2. Який цитокін серед досліджуваних медіаторів імунної відповіді при HBV-інфекції виявився найбільш впливовим?
3. Який саме симбіотик та режим його прийому є найбільш оптимальним, зокрема у хворих на ГГВ?

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, що містить нові науково обґрунтовані результати та вирішує одну з актуальних проблем сучасної медицини – удосконалення діагностичної і лікувальної тактики та розробка додаткових імунологічних та мікроекологічних критеріїв прогнозування перебігу HBV-інфекції, що відповідає спеціальності 14.03.08 – імунологія та алергологія.

За актуальністю та медико-соціальною значущістю теми, обґрунтованістю наукових положень і висновків, достовірністю та новизною отриманих результатів, повнотою їх викладу в опублікованих працях, оприлюднення на медичних форумах, практичною значущістю дисертаційна робота відповідає вимогам пункту 11 Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 № 567, а здобувач Скляра А.І.

заслугове присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

