

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 МОЗ України на дисертаційну роботу Лядової Тетяни Іванівни «Характеристика імуно-генетичних порушень у патогенезі, клінічних проявах та наслідках ВЕБ-інфекції та їх корекція», подану у спеціалізовану вчену раду Д 64.61.618.01 при ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

1. Актуальність обраної теми. Дисертаційна робота Лядової Тетяни Іванівни «Характеристика імуно-генетичних порушень у патогенезі, клінічних проявах та наслідках ВЕБ-інфекції та їх корекція» присвячена вирішенню важливого наукового завдання, а саме підвищенню ефективності лікування, прогнозування перебігу та попередження наслідків ВЕБ-інфекції.

Доцільність вивчення інфекційного процесу, викликаного вірусом Епштейна-Барр (ВЕБ) обумовлена низкою об'єктивних обставин, однією з яких є убіквітарне розповсюдження ВЕБ серед населення. Згідно епідеміологічних даних, до досягнення повноліття близько 90% є інфікованими ВЕБ. При цьому доведена залежність темпів інфікування від соціально-економічних чинників. Іншою обставиною є особливість патогенезу ВЕБ-інфекції, яка по суті являється інфекцією імунної системи, де головними клітинами-мішенями для вірусу є CD21⁺-лімфоцити та епітелій слизових оболонок. Характерною рисою ВЕБ-інфекції є виникнення внутрішньоклітинної персистенції вірусу, здатної до реактивації в умовах імунодепресії організму.

Вивчення ролі ВЕБ у виникненні різних імунопатологічних станів, зокрема демієлінізуючих захворювань, цитопеній, аутоімунних, онкологічних захворювань та ін., залишається актуальним завданням. Застосування передових молекулярно-генетичних методів діагностики дозволяє дослідити імунопатологічні процеси, що відбуваються під час інфікування та реактивації ВЕБ-інфекції. Одна із можливих причин клінічного різноманіття полягає в

генетичній рестрикції імунної відповіді організму на інфекцію ВЕБ. Тому наукові дослідження у сфері імуногенетики людини є вельми актуальними в мають важливе значення для розкриття основ патогенезу ВЕБ-інфекції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Представлена дисертаційна робота виконана в рамках наукової діяльності кафедри загальної та клінічної імунології та алергології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна: «Вивчення ролі імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний герпесвірусами» (№ держреєстрації №0112U005911).

2. Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, наукових висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Використання сучасних методів дослідження, достатня кількість обстежених хворих, поглиблений аналіз та статистична обробка та порівняння їх з даними інших дослідників дозволили Лядовій Т.І. в дисертаційній роботі обґрунтувати і узагальнити наукові положення, висновки та практичні рекомендації.

При виконанні роботи дисертантом було використано сучасні молекулярно-генетичні, імунологічні та біохімічні методи дослідження, що адекватні з точки зору вирішення поставлених завдань, які ґрунтувались на засадах консенсусу з медичної біоетики та принципах доказової медицини. Робота відрізняється різноманітністю використання методів і прийомів дослідження і в цілому є прикладом комплексного підходу до вирішення поставлених завдань.

3. Наукова новизна та достовірність положень, сформульованих у дисертації. Достовірність основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих в дисертаційній роботі Лядової Т.І, ґрунтується на: раціональному розподілі пацієнтів на групи; достатньому обсязі виконаних клініко-імунологічних досліджень; використанні адекватних і загальноновизнаних методів дослідження. Цифрові результати досліджень оброблено у відповідності із правилами альтернативної і рядової варіаційної статистики, Визначено різні статистичні абсолютні та відносні показники: середня арифметична величина, її стандартне квадратичне відхилення, критерій достовірності відмінності порівняних величин Ст'юдента. Розподіл генотипів визначали, застосовуючи закон Харді-Вайнберга. Перевірку на відповідність рівновазі Харді-Вайнберга здійснено за допомогою критерію χ^2 .

Порівняння частот алелей та генотипів між групами, які досліджувались, проводили шляхом аналізу таблиць спряження та точного тесту Фішера. Для порівняння частот варіантів у незв'язаних групах вираховували відношення шансів (OR) із визначенням 95% довірливого інтервалу (CI). Відносний ризик розвитку захворювання та ускладнення оцінювали за допомогою показника OR.

Викладене вище засвідчує те, що сформульовані у дисертаційній роботі Лядової Т.І. основні наукові положення і висновки є достовірними, а практичні рекомендації – обґрунтованими.

Наукова новизна полягає в наступному. Дисертантом вперше надано комплексну всебічну характеристику імунних показників, про- та протизапальних ЦК, аутоімунних, генетичних маркерів та встановлено їх роль як предикторів перебігу та наслідків захворювання при ВЕБ-інфекції. Визначено імунні показники, типи продукції ЦК, генетичні маркери, які сприяють формуванню ІМ у паст-інфекцію та з якими асоційований розвиток ХВЕБ-інфекції. Досліджено імунний статус хворих на ХВЕБ-інфекцію, визначено характер імунних порушень в клітинній, гуморальній та фагоцитарній ланках імунної системи. Встановлено, що розвиток вторинного імунодефіцитного стану при ХВЕБ пов'язаний з розладами Т-ланки імунітету; пригніченням функціональної активності Т-лімфоцитів; зниженням проліферативної здатності Т-клітин продукувати та повноцінно відповідати на активуючу дію ІЛ-2; дисбалансом між Th1-, Th2-клітинами; здатністю формувати високоактивні Т-цитотоксичні лімфоцити, які спроможні пригнічувати реплікацію вірусу з підвищенням частки в пулі Т-лімфоцитів тин; збільшенням вмісту індукованих ВЕБ-інфекцією CD8⁺CD28⁻-клітин, здатних через прямий контакт або опосередковано через продукцію ІЛ-10, ТФРβ1 пригнічувати Т-клітинну імунну відповідь. Вперше встановлено, що реактивація ВЕБ-інфекції, головним чином, пов'язана із зниженням в периферичній крові ІФН-α та ІФН-γ; зниженою здатністю імунокомпетентних клітин до їх продукції; з низькою противірусною активністю цитотоксичних Т-лімфоцитів та натуральних кілерів; зі зниженням продукції ІЛ-2 та ІЛ-12 мононуклеарами крові; нездатністю специфічних ІgM та ІgG ефективно елімінувати вірус.

Лядова Т.І. детально дослідила та комплексно охарактеризувала вміст основних регуляторних цитокінів, визначила тип їх продукції залежно від

форми та перебігу захворювання. За результатами дослідження встановлено чотири типи реагування, що притаманні хворим на ІМ та хронічну ВЕБ-інфекцію.

Автором вперше при ВЕБ-інфекції проведено визначення поліморфізму -1486T/C гену TLR-9, що виявило асоціацію генотипу СС з ІМ, негативну асоціацію для генотипу ТТ та відсутність асоціації з ІМ для генотипу ТС. Автором досліджено наявність асоціації типів цитокінового реагування з виявленими алелями -1486T/C гену TLR-9. Встановлено, що при виявленні гомозиготної алелі СС -1486T/C гену TLR-9 вірогідність дисоціативного типу реагування є прогнозованою, що асоційовано із затяжним перебігом хвороби та реконвалесценції; для генотипів ТС та ТТ визначена асоціація з гладким перебігом ІМ.

Дисертантом доведена ефективність застосування комплексної терапії з призначенням препарату алокін-альфа (алоферон), віферону (рекомбінантний інтерферон $\alpha 2\beta$) та валацикловіру для корекції імунних порушень у хворих при хронічних формах ВЕБ-інфекції. Запропонована схема призводить до зменшення числа рецидивів, спричиняє достовірний позитивний вплив на показники імунограми та ЦК, що демонструє її доцільність та необхідність при лікуванні хронічних форм ВЕБ-інфекції.

4. Повнота викладення сформованих у дисертації наукових положень, висновків і рекомендацій. Результати досліджень, основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації, що висвітлюють основні аспекти докторської дисертації Лядової Т.І. оприлюднено і обговорено на науково-практичних конференціях. Публікації представлені в достатньому обсязі. За матеріалами дисертації опубліковано 39 наукових праць (11 одноосібно), у тому числі 2 навчальних посібника, 26 статей (з них 18 – у наукових фахових виданнях України, 8 – у міжнародних виданнях, 16 – включено до наукометричних баз), отримано 3 патенти України на корисну модель; 8 тез доповідей на наукових конференціях. У матеріалах дисертації після викладання наукових результатів кожного її розділу автором представлено перелік власних робіт, в яких ці результати опубліковано.

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

5. Структура, зміст і завершеність дисертаційної роботи.

Докторська робота Лядової Т.І. викладена на 303 сторінках і включає анотацію, вступ, огляд літератури, об'єкт та методи досліджень, сім розділів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки і практичні рекомендації. Список використаних джерел складають 402 джерела, в тому числі 185 кирилицею і 217 латиницею. Матеріали дисертації ілюстровані 48 таблицями і 52 рисунками.

У вступі лаконічно і переконливо обґрунтовано актуальність для медичної галузі вирішення задачі підвищення ефективності діагностики та лікування пацієнтів із ВЕБ-інфекцією. Висвітлено зв'язок роботи з науковими програмами, 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 і опублікування останніх, а також відомості про обсяг та структуру дисертації.

Розділ 1 є оглядом літератури і складається із трьох підрозділів: **«Сучасні клініко-патогенетичні аспекти ВЕБ-інфекції»**, який висвітлює молекулярно-епідеміологічну характеристику ВЕБ-інфекції та основні патогенетичні механізми клінічних форм, що реєструються у даної категорії хворих. Підрозділ **«Імуно-генетичні аспекти ВЕБ-інфекції»** включає аналіз сучасних даних літератури щодо загальної характеристики та ролі основних цитокінів у хворих на ВЕБ-інфекцію, характеристику аутоімунних маркерів та поліморфізму рецепторів TLR9. Підрозділ **«Актуальні напрямки етіотропної та патогенетичної терапії хворих на ВЕБ-інфекцію»** представлений аналізом сучасних літературних джерел щодо схем та підходів до лікування різних форм ВЕБ-інфекції. У огляді літератури досить глибоко і критично проаналізовано сучасний стан наукових даних щодо особливостей патогенезу та погляду на діагностичні алгоритми та лікування ВЕБ-інфекції; розповсюдженість ВЕБ-інфекції; розглянуто сучасні аспекти діагностики ВЕБ-інфекції та перспектив розробки комплексного підходу до лікування пацієнтів з ВЕБ-інфекцією.

У розділі 2. Об'єкт і методи дослідження детально представлена загальна характеристика груп хворих, критерії постановки діагнозу, основні лабораторні, імунологічні, молекулярно-генетичні та статистичні методи дослідження. Методи, що використані автором є сучасними,

високоінформативними й адекватними щодо мети та завдань дослідження. Отримані результати оброблені за допомогою сучасних методів статистики, які обґрунтовують вірогідність отриманих результатів та висновків.

Розділ 3. Клініко-лабораторна, серологічна та вірусологічна характеристика форм ВЕБ-інфекції представлений детальною клініко-лабораторною характеристикою гострих та хронічних форм ВЕБ-інфекції, визначенням наявності специфічних антитіл та ДНК ВЕБ. Один з підрозділів представлений дослідженнями щодо генотипування ВЕБ, за результатами якого встановлено превалювання генотипу ВЕБ-1 у хворих з різними формами ВЕБ-інфекції.

Розділ 4. «Показники імунної відповіді у хворих на ВЕБ-інфекцію» включає детальну характеристику щодо вмісту та динаміки імунологічних показників у хворих на різні форми ВЕБ-інфекції. На підставі проведених досліджень дисертантом встановлено, що гладкий перебіг ІМ характеризується активацією клітинної ланки імунітету, підвищенням вмісту Th1-клітин; збільшенням співвідношення Th1/Th2 за рахунок вмісту Th1-клітин, що підтверджує формування імунної відповіді в бік Th1-клітин. Затяжний перебіг ІМ, який найчастіше трансформується у хронічну форму характеризується помірним підвищенням вмісту Т-лімфоцитів ($CD3^+$; $CD4^+$; $CD8^+$), порівняно з даними при гладкому перебігу. Даний варіант імунної відповіді відзначається підвищенням вмісту $CD8^+CD28^-$; вірогідним підвищенням вмісту Th2-клітин; змінами співвідношення Th1/Th2 за рахунок Th2-клітин на тлі довготривалої реплікативної активності ВЕБ.

Також у розділі представлена характеристика вмісту імунних показників у хворих на ХВЕБ, де була встановлена тенденція до зменшення вмісту окремих класів Т-лімфоцитів, підвищення $CD8^+CD28^-$; $CD20^+$; Th2-клітин; дисбаланс у співвідношенні вмісту Th1/Th2 за рахунок Th2-клітин.

Розділ 5. «Особливості динаміки основних регуляторних цитокінів при різних формах ВЕБ-інфекції» містить дані щодо вмісту та динаміки основних ЦК при різних формах ВЕБ-інфекції. Дослідження показників проведено у розпалі ІМ та в періоді реконвалесценції, при хронічних формах вміст ЦК визначався у періоді реактивації та ремісії. За результатами досліджень визначені динамічні зміни, що характеризували перебіг інфекційного процесу.

Аналіз вмісту ЦК при різних формах ВЕБ-інфекції дозволив автору встановити чотири типи ЦК реагування: нормореактивний, гіперреактивний, дисоціативний та гіпореактивний, що характеризували гостру та хронічну ВЕБ-інфекцію.

Розділ 6. «Аутоімунні маркери при різних формах ВЕБ-інфекції» представлений даними аналізу рівнів аутоімунних маркерів у хворих на гострі та хронічні форми ВЕБ-інфекції. Найбільш значущі відмінності встановлено автором при ХВЕБ. На підставу отриманих даних дисертант рекомендує дослідження вмісту аутоімунних маркерів з метою ранньої діагностики можливих ускладнень та для підвищення ефективності проведеної терапії у хворих на ВЕБ-інфекцію.

Розділ 7. «Діагностична значимість поліморфізму гену TLR 9 типу, що характеризує гострий та хронічний перебіг ВЕБ-інфекції» містить дані щодо вивчення розповсюдженості частот поліморфізму -1486 Т/С гену TLR-9 у хворих з різними формами ВЕБ-інфекції. В розділі наведено дані асоціації виявлених генотипів з маніфестними формами хвороби, їх асоціація з типами цитокінового реагування у хворих на ІМ та ХВЕБ.

У розділі 8. «Аналіз кореляційних зв'язків між рівнями основних цитокінів та імунологічними, клініко-лабораторними показниками у хворих на ВЕБ-інфекцію» детально представлена ґрунтовна характеристика кореляційних зв'язків та структур при різних варіантах ВЕБ-інфекції. Аналіз міжсистемних та внутрішньосистемних зв'язків між групами дослідження, дозволив встановити напруженість імунної системи у розпалі ІМ за типом гіперкомпенсації, а в періоді реконвалесценції – напруженість у режимі гіперкомпенсації за відсутності явищ декомпенсації. При ХВЕБ встановлена різко виражена диспропорція між зв'язками, яка є підставою для висновку, щодо перебування імунної системи в кризовому режимі з явищами виснаження в періоді реактивації інфекції. Виявлені зміни свідчать про те, що в під час реактивації ХВЕБ формується патогенетична детермінанта, яка може бути доволі тривалою в часовому аспекті, що підтверджується результатами аналітичного дослідження, яке виявило в періоді ремісії підвищені рівні ЦК і імунних показників.

Розділ 9. «Оцінка ефективності застосування алоферону (алокін-альфа) та рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2b$ (віферон) у хворих на ВЕБ-інфекцію» автором присвячений вивченню клінічної ефективності

імунокорегуючої терапії з застосуванням алоферону (алокін-альфа) та рекомбінантного інтерферону $\alpha 2b$ (віферон) у хворих на ХВЕБ. Доведено, що запропонована схема характеризується вірогідною позитивною динамікою клінічних симптомів, сприяє нормалізації вмісту імунних показників та основних ЦК, призводить до швидкої елімінації ДНК ВЕБ та зменшенню частоти рецидивів.

Розділ **«Аналіз та узагальнення результатів»** містить ретельний аналіз результатів проведеного дослідження і даних літератури. Дисертантом проведено детальне співставлення власних результатів дослідження з літературними даними. Висновки включають стисле формулювання здобувачем наукових узагальнень, які в сукупності і повною мірою відображають теоретичні та практичні результати роботи і вирішення завдання щодо розробки комплексної лікувальної тактики пацієнтів з ВЕБ-інфекцією.

При детальному знайомстві з положеннями дисертації виникли деякі запитання:

1. Чим обумовлені затяжні форми ІМ асоційовані з генотипом СС?
2. Які предиктори можливих ускладнень при ВЕБ-інфекції були Вами виявлені?
3. Чим обумовлений рецидивуючий характер ВЕБ-інфекції і як впливають на цей процес запропоновані схеми лікування?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота **Лядової Тетяни Іванівни «Характеристика імунно-генетичних порушень у патогенезі, клінічних проявах та наслідках ВЕБ-інфекції та їх корекція»**, представлена до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.61.618.01 при ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук є самостійною завершеною науково-дослідницькою працею та містить наукові положення та науково обґрунтовані результати.

Дисертаційна робота Лядової Т.І. за актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, теоретичною та практичною цінністю відповідає вимогам п.11-13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567 (зі змінами внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від

19.08.2015 року та №1159 від 30.12.2015) щодо докторських дисертацій, а її автор – Лядова Тетяна Іванівна заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

Завідувач кафедри клінічної
імунології та алергології з секцією
медичної генетики Національного
медичного університету імені
О.О.Богомольця МОЗ України,
доктор медичних наук, професор

Підпис: 
Курченко А.І.

