

ВІДГУК ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу

на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю

222 – Медицина (Галузь знань 22 – Охорона здоров'я)

на тему: «Роль гуморальних факторів імунітету у розвитку, перебігу корової інфекції та виникненні ускладнень»

Веклич Ксенії Артемівни

1. Актуальність теми

Кір на сучасному етапі залишається надзвичайно важливою проблемою для системи охорони здоров'я. Спалахи кору мають циклічний характер і відбуваються кожні 5-6 років. Головною причиною спалахів кору є низьке охоплення населення щепленнями. Кір вважається однією з головних причин дитячої смертності в світі. Вірус кору має високий рівень контагіозності.

Імунний захист при кору є складним комплексом взаємодії між гуморальними і клітинними ланками імунітету. Вірус кору має високий тропізм до лімфоїдної тканини, уражує альвеолярні макрофаги, дендритні клітини, Т- та В-клітини лімфоїдних структур нижніх дихальних шляхів. Також вірус характеризується здатністю до реплікації у ендотеліальних та епітеліальних клітинах. Кір значно пригнічує роботу імунної системи, з чим пов'язаний розвиток ускладнень. Кір характеризується тривалою імуносупресією, що в свою чергу зумовлює розвиток ускладнень у вигляді бактеріальних інфекцій.

Отже, дисертація *Веклич Ксенії Артемівни* присвячена актуальній проблемі у галузі інфекційних хвороб – визначення характеру імунних перебудов у пацієнтів з коровою інфекцією різного ступеня тяжкості, їх прогностичне значення в тяжкості клінічного перебігу корової інфекції та розвитку ускладнень та зв'язок імунних змін з рівнем експресії Toll-like рецепторів 9 типу.

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

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної роботи (НДР) кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного

факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна «Роль імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та оптимізація засобів лікування» (№ держреєстрації 0117U004874). Дисертантом проведено дослідження та вивчення ролі основних регуляторних цитокінів, специфічної імунної відповіді на вірус кору, аутоімунних маркерів та інших показників імунної системи, проведено кореляційний аналіз змін показників, що вивчалися, та ступенем тяжкості захворювання та ризиком розвитку ускладнень.

3. Наукова новизна отриманих результатів, ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації та їх достовірність.

У дисертаційній роботі запропоновано нові дані та узагальнено актуальні науково-практичні завдання, що полягає у визначенні ролі гуморального імунітету у розвитку та перебігу корової інфекції та визначенні імунологічних прогностичних показників тяжкості захворювання та формування ускладнень.

В основу роботи покладено дослідження, проведені на клінічній базі кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна – комунальне некомерційне підприємство Харківської обласної ради «Обласна клінічна інфекційна лікарня» (головний лікар – д.м.н., професор П.В. Нартов).

Виконано комплексне клініко-лабораторне обстеження 108 пацієнтів з коровою інфекцією, які були розподілені на групи: 1 група – пацієнти з гострою коровою інфекцією середнього ступеня тяжкості, що не мали ускладнень та знаходились на лікуванні у загальному відділенні; 2 група – пацієнти з гострою коровою інфекцією середнього ступеня тяжкості, що мали позагоспітальну пневмонію та знаходились на лікуванні у загальному відділенні; 3 група – пацієнти з гострою коровою інфекцією тяжкого ступеня тяжкості, що не мали ускладнень та знаходились на лікуванні у відділенні реанімації та інтенсивної

терапії; 4 група – пацієнти з гострою коровою інфекцією тяжкого ступеня тяжкості, що мали позагоспітальну пневмонію та знаходились на лікуванні у відділенні реанімації та інтенсивної терапії. Групи спостереження були рандомізовані та однорідні за віковими показниками та ступенем тяжкості захворювання. До контрольної групи було залучено 20 практично здорових осіб.

Результати дослідження статистично оброблені, що забезпечує їх достовірність. Отримані в процесі проведення дослідження результати опрацьовано з використанням пакету програм IBM SPSS Statistics 22.0 (Faculty Pack L/N: L-GLBC-99H6WQ).

Наукові положення та висновки роботи зроблені на підставі отриманих даних і відповідають встановленим задачам і меті.

Достатня кількість спостережень, репрезентативність груп хворих, статистична обробка даних дозволяють оцінити отримані результати, наукові пояснення, висновки та фактичні рекомендації, що сформульовані у дисертації, як обґрунтовані та достовірні.

4. Новизна отриманих результатів.

Результатом проведеного комплексу загальноклінічних, лабораторних, інструментальних, імунологічних та імуноферментних досліджень стало поглиблення вже існуючих та отримання нових даних про роль імунної системи у розвитку, перебігу корової інфекції та виникненні ускладнень.

Встановлено, що корова інфекція у дорослих розвивається на фоні низьких титрів специфічних IgG-антитіл і їх низької авідності та зниження загальної імунореактивності організму.

Продемонстровано, що низька динаміка приросту рівнів ІНФа та ІНФу і специфічних до кору IgG при розвитку захворювання обумовлює тяжкість перебігу захворювання та виникнення ускладнень. Розвиток захворювання тяжкого ступеня тяжкості в певній мірі обумовлюється реакцією імунної системи за первинним типом (переважно продукцією IgM-антитіл). Передумовою легкого перебігу захворювання є значне та раннє, в перші дні захворювання, підвищення рівнів ІНФ та специфічних IgG-антитіл.

Вперше досліджено зміни рівнів про- та протизапальних цитокінів в динаміці перебігу захворювання, визначено типи цитокінового реагування на корову інфекцію. При тяжкому перебігу захворювання спостерігається гіпореактивний та дисоціативний тип реагування, а при легкому – нормореактивний.

Визначення рівнів аутоантитіл до нативної ДНК (ADNA-2), мікросом печінки та нирок (anti-LKM-1) та антитіл до фосфоліпідів клітинних мембран продемонструвало, що антитіла, які з'являються при коровій інфекції, не генерують агресивні аутоімунні реакції, а їх рівні прогресивно знижуються по мірі згасання інфекційного процесу.

Встановлено, що тяжкість перебігу корової інфекції асоціюється з рівнем експресії Toll-like рецепторів 9 типу, рівень експресії яких знаходиться в прямому кореляційному зв'язку з продукцією прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $r = +0,61 \pm 0,08$; ІЛ-6 $r = +0,87 \pm 0,05$) а також ІНФ α ($r = +0,78 \pm 0,02$) та ІНФ γ ($r = +0,46 \pm 0,1$).

5. Важливість отриманих результатів для науки та народного господарства, рекомендації щодо їх використання

Рекомендовано моніторинг лейкоцитарних індексів клітинної реактивності (ЛПКР), рівнів цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ІНФ α , ІНФ γ), вірус-специфічних IgG-антитіл та їх авідності для прогнозування тяжкості перебігу корової інфекції та розвитку ускладнень (Свідectwo на авторське право на «науковий літературний твір «Використання комбінації показників приросту рівнів інтерферонів альфа та гамма, авідності імуноглобулінів класу G та зміни показників індексу зсуву лейкоцитів крові у прогнозуванні тяжкості перебігу корової інфекції» №102652 від 17.02.2021).

За умови тяжкого перебігу кору для попередження розвитку аутоімунної патології рекомендовано дослідження рівня аутоантитіл до фосфоліпідів клітинних мембран, IgG до мікросом печінки та нирок (anti-LKM-1) та IgG до нативної ДНК (ADNA-2).

Запропоновано математичне прогнозування тривалості перебування пацієнтів у стаціонарі на підставі характеру їх імунореактивності.

Проведеними дослідженнями доведено, що особи з низьким титром захисних анти-корових IgG-антитіл та низькою їх авідністю складають групу ризику на захворювання коровою інфекцією. Цим особам рекомендовано проведення вакцинації проти кору.

6. Особистий внесок дисертанта. Представлені у роботі матеріали є особистим внеском здобувача у розв'язання питань клінічних проявів, імунологічних порушень та генетичних маркерів у хворих на корову інфекцію різного ступеня тяжкості, що дало змогу оптимізувати діагностику, поглибити розуміння розвитку та клінічного перебігу захворювання та розробити схему поглибленого обстеження хворих із коровою інфекцією як з ускладненнями, так і без них. Мета та завдання дослідження запропоновані дисертантом та скореговані науковим керівником доктором медичних наук, професором М.М.Поповим. Дисертантом проведено самостійний аналіз сучасних літературних наукових даних, інформаційно-патентний пошук за темою дисертації, консультування та лікування хворих на клінічній базі кафедри; також автором особисто виконано перераховані дослідження, проведено статистичну обробку, узагальнення та інтерпретацію отриманих даних, сформульовано висновки та практичні рекомендації.

Персональний внесок дисертанта у всіх опублікованих із співавторами роботах наводиться за текстом дисертації та в авторефераті у списку наукових праць.

7. Повнота викладення результатів дослідження в опублікованих роботах

За матеріалами дисертації опубліковано 22 наукових праць, зокрема 2 статті в іноземних виданнях, одна з них у виданні, що обліковується наукометричною базою Scopus, 8 - у фахових виданнях України, рекомендованих МОН України, опубліковано 12 тез у матеріалах з'їздів і науково-практичних конференцій. Отримано 1 свідоцтво на авторське право на

«науковий літературний твір».

8. Оцінка змісту дисертації

Роботу викладено за загальноприйнятою формою на 167 сторінках машинописного тексту, складається із анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, 8 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків та практичних рекомендацій, списку використаних джерел, з них кирилицею – 20, латиницею – 104. Робота містить 28 таблиць, 29 рисунків.

У вступі детально обґрунтовано актуальність обраної теми та доцільність проведення дослідження. Мета та завдання дослідження сформульовані чітко та, в подальшому, відповідають висновкам.

У першому розділі (огляд літератури), який складає 24 сторінок, дисертантом наведені сучасні літературні дані, що відповідають тематиці дослідження. Розділ містить 5 підрозділи, в яких наведено дані щодо молекулярно-епідеміологічної, клініко-патогенетичної та імунологічні характеристики вірусу кору, а також значення цитокінів у формуванні протикорового імунітету, місце Toll-подібних рецепторів в імунній відповіді. Проаналізовано наукові дані стосовно діагностики, лікування та профілактики корової інфекції. Огляд літератури складає 14,4 % від загального обсягу дисертації.

У другому розділі (матеріали і методи) автором у достатньому обсязі наведено дані про розподіл обстежених осіб на клінічні групи та їх характеристика, здійснено клініко-лабораторну оцінку досліджених пацієнтів, опис основних методів дослідження. Одночасно із загально прийнятими лабораторними дослідженнями проводили спеціальні дослідження: кількісне визначення внутрішньоклітинного Toll-like рецептора 9 типу на моноклеарах периферійної крові проводилось за допомогою методу проточної цитометрії, визначення рівнів специфічних противірусних антитіл класів IgG, IgM IgA та авідності імуноглобулінів класу G, а також загальних імуноглобулінів класу E проводились за допомогою методу твердофазного імуноферментного аналізу.

Дослідження цитокінового профілю залучених у дослідження пацієнтів проводили за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу. Концентрацію в сироватці крові рівнів антитіл до фосфоліпідів клітинних мембран, IgG до мікросом печінки та нирок (anti-LKM-1) та IgG до нативної ДНК (ADNA 2) проводилось методом твердофазного імуоферментного аналізу. Визначення циркулюючих імунних комплексів проводилось методом імунного турбодиметричного аналізу. Дослідження проводили у день надходження до стаціонару та на 10^й день перебування у стаціонарі.

Методи досліджень, які були використані в роботі, є загальновизнаними та об'єктивними. Дисертант детально описав спеціальні методи дослідження. Дисертантом обрані сучасні методи статистичної обробки, що є достатніми для оцінки та аналізу отриманих результатів.

У третьому розділі наведено клініко-лабораторну характеристику перебігу корової інфекції, а саме клінічну характеристику пацієнтів, залучених у дослідження, представлені показники крові пацієнтів з коровою інфекцією різного ступеня тяжкості. Представлені особливості системи коагуляції пацієнтів з коровою інфекцією різного ступеня тяжкості.

Встановлено, що тяжкість перебігу корової інфекції асоціюється з характером лейкоцитарної реакції організму (абсолютним та відносним вмістом в периферійній крові лімфоцитів, моноцитів, нейтрофілів, тромбоцитів), а також показниками ІЗЛ та ЛП.

Корова інфекція середнього ступеня тяжкості розвивається на фоні лімфоцитозу, відносної нейтропенії, зниження ІЗЛ та підвищення ЛП. Тяжкий ступінь тяжкості захворювання спостерігається на фоні лейкоцитозу, лімфоцитозу, моноцитозу, тромбоцитопенії, підвищення ІЗЛ та зниження ЛП. Раннє та значне підвищення рівнів вірус-специфічних імуноглобулінів є передумовою більш легкого перебігу захворювання та мінімізує ризик розвитку ускладнень.

У четвертому розділі, присвяченому характеру цитокінової реакції хворих на корову інфекцію, дисертантом доведено, що у пацієнтів з коровою інфекцією спостерігаються три типи цитокінового реагування – нормореактивний,

дисоціативний та гіпореактивний. Захворювання середнього ступіня тяжкості розвивається при нормореактивному типі, тяжкого ступеня тяжкості без ускладнень – при дисоціативному типі, а тяжкого ступеня тяжкості з ускладненнями – за умови гіпореактивного типу цитокинової реакції. Тяжкість перебігу корової інфекції і розвиток ускладнень асоціюється з низьким рівнем в сироватці крові про- та протизапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-4, ІЛ-6 та ІЛ-10), ІНФа та ІНФу та динамікою приросту рівнів ІНФа та ІНФу. Розділ 4 достатньо ілюстрований таблицями та рисунками.

У п'ятому розділі наведено характер специфічної гуморальної імунної реакції хворих на корову інфекцією.

Отримані дані свідчать, що корова інфекція у дорослого населення розвивається на фоні низьких титрів специфічних антитіл і їх низької авідності. Захворювання тяжкого ступеня, у порівнянні з середньотяжким перебігом, характеризується значного зниження рівнів специфічних IgA-АТ та IgG-АТ та їх авідності зі слабкою тенденцією до підвищення цих показників в динаміці без досягнення значень контрольної групи. Продemonстровано, що раннє та значне підвищення рівнів вірус-специфічних імуноглобулінів є передумовою більш легкого перебігу захворювання та мінімізує ризик розвитку ускладнень.

У шостому розділі автором представлено характер змін системи комплемента, рівнів загальних імуноглобулінів А, М, G та Е та циркулюючих імунних комплексів у хворих на корову інфекцію. Автор робить висновок, що корова інфекція у пацієнтів з середньотяжким та тяжким захворюванням перебігає на фоні низьких рівнів загальних Ig А, М та G, комплемента, зокрема, С3-компонента, підвищеного рівня загального IgE та ЦІК усіх розмірів.

Тяжкий ступінь захворювання, у порівнянні з середньотяжким, характеризується значним ($p < 0,05$) зниженням активності комплементу, підвищенням рівня низькомолекулярних ЦІК та IgE.

Продemonстровано, що корова інфекція середнього ступеня тяжкості розвивається на фоні підвищення рівня тромбоцитів та їх активності без суттєвих порушень в системі коагуляції, тоді як тяжкий ступінь тяжкості

захворювання спостерігається за умови тромбоцитопенії та низької активності тромбоцитів з гіперагрегацією.

У цьому розділі наведено аутоімунні реакції при коровій інфекції різного ступеня тяжкості. Автор доводить, що розвиток корової інфекції супроводжується активізацією аутоімунних реакцій. У пацієнтів усіх груп спостерігалось підвищення рівнів аутоантитіл до нативної ДНК (ADNA2), мікросом печінки та нирок (anti-LKM-1) та фосфоліпідів клітинних мембран у порівнянні зі здоровими особами. При тяжкому перебігу захворювання з пневмонією у 66% осіб реєструвались аутоАТ у верхніх межах референтних значень. Ці пацієнти мають ризик розвитку агресивних аутоімунних процесів.

Розділ вісім присвячений особливостям експресії TOLL-LIKE рецепторів 9 типу на імунокомпетентних клітинах переферійної крові пацієнтів з коровою інфекцією та аналізу кореляційних зв'язків між рівнями основних цитокінів та рівнем експресії TOLL-LIKE рецепторів 9 типу. Встановлено, що захворювання середнього ступеня тяжкості характеризується підвищенням, а тяжкого – зниженням експресії TLR9 у порівнянні зі здоровими особами. Кореляційний аналіз Пірсона продемонстрував прямий кореляційний зв'язок між рівнем експресії TLR9 та рівнем у сироватці крові інтерферону альфа, інтерферону гамма та прозапальних цитокінів (ІЛ-1 та ІЛ-6) у всіх групах пацієнтів, сила зв'язку у відношенні ІНФа становила від +0,74 до +0,80, у відношенні ІНФу – від +0,23 до +0,65, у відношенні ІЛ-1 – від +0,49 до +0,79, та ІЛ-6 – від +0,79 до +0,95. У відношенні протизапальних цитокінів – інтерлейкінів 4 та 10 – встановлено зворотній кореляційний зв'язок, сила зв'язку коливалась від слабкої (-0,3) до високої (-0,76).

У дев'ятому розділі дисертантом представлено математичне прогнозування тривалості перебування пацієнтів з коровою інфекцією у стаціонарі. Автор доводить, що корова інфекція тяжкого ступеня тяжкості та розвиток ускладнень у значній мірі залежать від низької динаміки приросту специфічних IgG та ІНФа і ІНФу в сироватці крові.

На підставі отриманих даних проведено математичне моделювання тривалості перебування пацієнтів з коровою інфекцією у стаціонарі, яке демонструє, що вона значною мірою залежить від приросту рівня ІНФа. Визначення рівню показника в день надходження пацієнта у стаціонар дозволить оптимізувати та покращити якість надання медичної допомоги, розрахувати та раціоналізувати витрати на лікування та скоротити тривалість стаціонарного лікування при застосуванні імунотропної терапії.

Розділ 10 аналіз та узагальнення результатів написаний за традиційним принципом, містить узагальнення власних досліджень дисертанта, що співставленні з сучасними даними інших науковців. Обговорення отриманих результатів обґрунтоване власним баченням виявлених змін.

Висновки ґрунтуються на результатах проведених досліджень, відповідають меті та завданням, але потребують доопрацювання та чіткості формулювання.

Практичні рекомендації обґрунтовані, впливають з матеріалів роботи, сформульовані чітко та можуть бути використані лікарями у клінічній практиці.

Список використаних джерел містить достатню кількість сучасних публікацій, широко використані роботи іноземних авторів.

Зауваження

У дисертаційній роботі є поодинокі орфографічні та стилістичні помилки, які не мають суттєвого впливу на значущість виконаного дослідження. Принципових зауважень і заперечень щодо поданого та викладеного у дисертації матеріалу немає.

Для дискусії пропонуються наступні питання:

1. З чим на Вашу думку пов'язаний більш низький рівень про- і протизапальних цитокінів в сироватці крові хворих на кір тяжкого ступеня у порівнянні з легким і середньотяжким ступенем хвороби?
2. Чому для вивчення системи вродженого імунітету Ви обрали саме вивчення експресії Толл-подібного рецептора 9 типу?

Заключення

Дисертаційна робота **Веклич Ксенія Артемівна** на тему: «Роль гуморальних факторів імунітету у розвитку, перебігу корової інфекції та виникненні ускладнень», на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина (Галузь знань 22 – Охорона здоров'я) є самостійною завершеною науково-дослідницькою роботою. Дисертація за актуальністю, об'ємом і рівнем проведених досліджень, науковою новизною і практичною значимістю дисертація **Веклич К. А.** відповідає вимогам п. 10, 11 “Проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії” Постанови Кабінету Міністрів України № 167 від 06.03.2019, що пред'являються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – медицина.

Завідувачка кафедри інфекційних хвороб
Харківського національного
медичного університету,
д.мед.н., професорка



К.В. Юрко