

ВІДГУК

**офіційного опонента - доктора медичних наук, професора кафедри
загальної та клінічної імунології та алергології**

Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна

Попова Миколи Миколайовича на дисертаційну роботу

**Горбаль Наталі Миронівни «Особливості імунної відповіді у пацієнтів із
системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої
герпетичної інфекції першого типу та тактика їх ведення», подану у
спеціалізовану вчену раду Д 64.051.33 Харківського національного
університету імені В.Н.Каразіна Міністерства освіти і науки України на
здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю
14.03.08 – імунологія та алергологія**

Актуальність обраної теми. Дисертаційна робота Горбаль Наталі Миронівни «Особливості імунної відповіді у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції першого типу та тактика їх ведення» присвячена одній із актуальних і важливих проблем сучасної медицини – рецидивуючій герпетичній інфекції першого типу (ВПГ-1-інфекції) та її ролі в розвитку системних захворювань сполучної тканини (СЗСТ), а також розробці підходу до комплексної терапії даних патологій.

Системні захворювання сполучної тканини – одна з найбільш актуальних медико-соціальних світових проблем, що зумовлено їх значним поширенням, впливом на працездатність, складністю ранньої діагностики і лікування. Захворювання часто мають атиповий перебіг, що затруднює їх діагностику, постановку правильних діагнозів та значну кількість ускладнень (з боку серцево-судинної, нервової, видільної систем, опорно-рухового апарату тощо). За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я ревматологічні захворювання є причиною 30% випадків тимчасової непрацездатності та 10% інвалідизації.

Аутоімунний характер ураження при СЗСТ вважається доведеним, хоча конкретний етіологічний фактор захворювання все ж невідомий. Обговорюють роль різноманітних інфекційних агентів, основними з яких науковцями прийнято вважати віруси, в тому числі вірус простого герпесу 1 типу. Вважається, що аутоімунні процеси при СЗСТ вірогідніше всього асоційовані з персистуючою чи латентною вірусною інфекцією, що викликає поліклональну активацію В-лімфоцитів, супресію інтерфероніндукуючої здатності лімфоцитів, що призводить до порушення елімінації патогенів. Окрім того, частина науковців схильні вважати, що віруси, найбільш імовірно, приєднуються до СЗСТ в результаті різкого ослаблення імунітету, як наслідок отримання імуносупресивної терапії.

Значимість ревматичних захворювань у медичних, соціальних, клінічних і економічних аспектах зобов'язує до подальшого вивчення сучасного стану захворюваності й поширеності, рівнів втрати працездатності.

Тому краще розуміння імунопатогенезу системних захворювань сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції першого типу підтверджує необхідність у подальшому детальному вивченні клінічних особливостей та імунологічних механізмів для формування персоніфікованого підходу до діагностики та лікування цих патологій.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до основних наукових напрямків роботи кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету та є самостійно виконаним фрагментом комплексної науково-дослідної роботи «Прогнозування розвитку вірус-індукованих фенотипів імунозалежних хвороб з персоніфікацією їх діагностики та лікування» (Державний реєстраційний № 0118U000110).

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, наукових висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Основні положення, висновки та практичні рекомендації сформульовані у дисертації Горбаль Н.М. ґрунтуються на отриманих результатах клінічних, вірусологічних, молекулярно-генетичних, імунологічних обстежень 110 хворих

на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, хворих лише на СЗСТ та лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію. Наукові положення та висновки дисертації є цілком достовірними та обґрунтованими, базуються на підставі поглибленого аналізу джерел літератури, використанні відповідних до поставленої мети та завдань сучасних клінічних і лабораторних методів досліджень. Обстежена кількість пацієнтів є достатньою для адекватної статистичної обробки результатів дослідження.

Достовірність результатів, отриманих в дисертаційній роботі, підтверджена статистичним аналізом, проведеним з використанням сучасного програмного забезпечення методами описової та аналітичної статистики. Результати статистичного аналізу логічно узагальнені та інтерпретовані з використанням даних літератури.

Наукова новизна та достовірність положень, сформульованих у дисертації.

Наукова новизна дисертації Горбаль Н.М. полягає у прогнозуванні несприятливого перебігу захворювання пацієнтів на системні захворювання сполучної тканини на тлі реактивованої герпетичної інфекції 1 типу на підставі аналізу особливостей клінічних, вірусологічних та імунологічних даних. На основі оцінки рівня цитокінів (IFN- γ , IL-4 та IL-10) отримано нові наукові дані щодо функціональної активності субпопуляцій Т-хелперів 1, 2 та 3 типів та їх впливу на перебіг захворювання у пацієнтів на СЗСТ за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу. Аналітично опрацьовані особливості клітиннозалежних та гуморальнозалежних імунологічних механізмів у хворих на СЗСТ за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу. Вперше розроблено математичні моделі, які дозволять прогнозувати кількість рецидивів ВПГ-1-інфекції в групі хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, а також встановлено причинні фактори реактивації ВПГ-1-інфекції та чинники, що зумовлюють зростання активності СЗСТ. Запропоновано ефективну схему лікування хворих на СЗСТ за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу з використанням комплексної протівірусної терапії на тлі базової терапії з

урахуванням частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції. Вперше вивчено питання інтерферонорефрактерності на місцевому та системному рівнях на тлі застосування протівірусної терапії інозин пранобексом в хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції. На основі динамічних змін клінічних та лабораторних показників проведено оцінку клінічної, вірусологічної та імунологічної ефективності, а також безпеки та переносимості протівірусної та імуномодуючої терапії в комплексному лікуванні хворих на СЗСТ з урахуванням кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції.

Повнота викладення сформованих у дисертації наукових положень, висновків і практичних рекомендацій. Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації дисертаційної роботи Горбаль Н.М. викладено в 8 друкованих працях, в тому числі у 4 наукових фахових виданнях, внесених до переліку МОН України, 4 – у тезах матеріалів наукових конференцій та конгресів.

Дисертаційна робота пройшла апробацію на численних наукових симпозиумах та міжнародних конференціях з міжнародною участю з 2015 по 2019 роки.

Структура, зміст і завершеність дисертаційної роботи

Текст дисертаційної роботи викладений українською мовою на 198 сторінках комп'ютерного друку. Робота складається з огляду літератури, 6 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та практичних рекомендацій, списку використаних джерел літератури (включає 203 найменувань, з них 50 кирилицею і 153 латиницею). Дисертація ілюстрована 23 таблицями, 45 рисунками.

У вступі розкрито актуальність обраної теми, її зв'язок з плановою науково-дослідною роботою кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, чітко сформульовано мету та завдання роботи, представлено наукове та практичне значення дисертаційних досліджень.

Розділ 1 «Сучасне уявлення про імунопатогенез, особливості клініки та лікування герпетичної інфекції 1 типу у пацієнтів із системними захворюванням сполучної тканини», в якому наведено сучасні аспекти поширеності герпетичної інфекції 1 типу та СЗСТ, роботи природженої та набутої ланок імунної системи у формуванні протівірусного захисту та ролі ВПГ-1-інфекції в розвитку СЗСТ. Розділ є аналітичним, інформативним, представленим у достатньому обсязі.

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження». В даному розділі дисертанткою наведені кількісні показники стосовно обстежених хворих, охарактеризовані застосовані в роботі методи дослідження. Методи дослідження відповідають меті та завданням дисертаційної роботи. Кількість хворих, які були обстежені дисертантом – достатня для статистичної обробки результатів і формування висновків дослідження.

Хворих було поділено на групи: 34 хворих на СЗСТ за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу, 40 хворих на СЗСТ та 36 хворих на реактивовану герпетичну інфекцію 1 типу. Серед СЗСТ дисертанткою було відібрано хворих на ревматоїдний артрит (РА) та системний червоний вовчак (СЧВ). Методами дослідження, які використано автором в даній дисертаційній роботі були: клінічні, молекулярно-генетичні, вірусологічні, імунологічні та статистичні. Основними лабораторними методами, якими дисертантка користувалася були:

1) визначення ДНК вірусу простого герпесу 1 типу в трьох біосередовищах методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР); 2) визначення специфічних IgM та IgG до вірусу герпесу 1 типу методом імуноферментного аналізу 3) визначення фенотипування лімфоцитів та їх активізаційних маркерів методом проточної цитофлюориметрії; 4) оцінка рівня цитокінів IFN- γ , IFN- α , IL-4 та IL-10 у сироватці крові та IFN- α в слині за допомогою імуноферментного аналізу.

Методологічний підхід, який використано при виконанні дослідження, є правильними і оптимальними для вирішення поставлених завдань. Число вибірки пацієнтів є цілком достатнім для оцінки достовірності отриманих

даних. У роботі здобувачем використано високоінформативні методи досліджень, адекватні поставленим завданням.

Розділ 3 «Клініко-лабораторні особливості системних захворювань сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу». У даний розділ входить 4 підрозділи, які дозволяють детальніше вивчити клінічні, молекулярно-генетичні, вірусологічні та імунологічні показники у хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції та порівняти з іншими групами досліджуваних. Перший підрозділ містить інформацію про особливості клінічного стану та перебігу РА та СЧВ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, які були оцінені на основі скарг, даних об'єктивного огляду та індексів активності СЗСТ (DAS28 - для оцінки активності РА, SLEDAI - для оцінки активності СЧВ), а також функціонального індексу порушення життєдіяльності HAQ. Було виявлено ряд скарг та клінічних синдромів (периферичні нейропатії, ураження органу зору, збільшення лімфатичних вузлів, нефропатія, біль голови, тривалий субфебрилітет, виражену загальну слабкість), які преваліювали у хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, порівняно із хворими лише на СЗСТ. Щодо оцінки активності СЗСТ, то дисертантка відмітила, що в хворих на РА за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції частота високої активності запального процесу за DAS28 виявилася вищою, ніж у хворих лише на РА. Схожа ситуація була в хворих на СЧВ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, у яких частіше виявляли високу активність та тяжкий перебіг порівняно з хворими на СЧВ. В другому підрозділі визначено серологічні та молекулярно-генетичні маркери вірусу простого герпесу 1 типу. Автором було продемонстровано, що посилений синтез специфічних IgM ВПГ-1 та IgG ВПГ-1 був відзначений у всіх досліджуваних групах, проте більш активний - у групі хворих із СЗСТ+ВПГ-1. Щодо детекції ДНК ВПГ-1 методом ПЛР, то у хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції та у хворих лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію ДНК ВПГ-1 частіше виявляли в зішкрябах з місць уражень чи слизових. У третьому підрозділі оцінка фенотипічних особливостей лімфоцитів у хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-

інфекції порівняно з хворими лише на СЗСТ показала вищий рівень $CD16^+56^+$ -лімфоцитів, що свідчило про вірусне навантаження у хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, вищий рівень $CD8^+28^-$ і нижчий $CD8^+28^+$ -лімфоцитів, що свідчило про пригнічення костимулюючих сигналів, які необхідні для формування адекватної імунної відповіді. У четвертому підрозділі дисертанткою було оцінено функцію імунокомпетентних клітин, базуючись на продуковані ними цитокіни (IFN- γ , IL-4, IL-10 у сироватці крові, а IFN- α в сироватці крові та в слині). Виявлено вищий рівень IL-4 та нижчий рівень IFN- γ у хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції порівняно з хворими лише на СЗСТ.

Розділ 4 «Прогностичні моделі на основі імунологічних показників у хворих на системні захворювання сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу та інших досліджуваних групах» містить запропоновані вперше математичні моделі, які дозволять прогнозувати ризик реактивації ВПГ-1-інфекції у хворих на СЗСТ, кількість рецидивів ВПГ-1 інфекції протягом року у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 та лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію, а також прогноз зростання активності СЗСТ - для пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та з СЗСТ.

Розділ 5 «Оцінка клінічної, вірусологічної, імунологічної ефективності протівірусної терапії у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу». Дисертанткою наведені дані щодо ефективності протівірусної терапії інозин пранобексом хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, базуючись на динаміці клінічних показників, динаміці виявлення ДНК ВПГ-1 та рівнів специфічних антитіл класів IgM та IgG (вірусологічна ефективність) та динаміці популяційного, субпопуляційного складу лімфоцитів, їх активізаційних маркерів, а також рівня цитокінів IFN- γ , IL-4 та IL-10 в сироватці крові, IFN- α (в сироватці крові та слині) (імунологічна ефективність).

У розділі 6 «Характеристика місцевої та системної інтерферонорефрактерності та переносимості протівірусної терапії у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу» було продемонстровано інтерферонорегулюючу дію інозин пранобексу та відсутність формування інтерферонорефрактерності в пацієнтів із СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції за умов отримання інозин пранобексу. Щодо переносимості інозин пранобексу, то дисертантка відзначила, що у більшості пацієнтів переносимість терапії інозин пранобексом була оцінена як «добра» (як за оцінкою хворих, так і за оцінкою лікарів), а незадовільної переносимості виявлено не було.

Практичне значення отриманих результатів

Практичні рекомендації логічно витікають з отриманих результатів, мають практичну та наукову цінність. Вони конкретні та готові до впровадження у практичну діяльність лікарів імунологів та ревматологів. Зокрема, хворим на СЗСТ з реактивованою ВПГ-1-інфекцією рекомендовано визначати ДНК ВПГ-1 в трьох біологічних середовищах (кров, слина, зішкряб) методом ПЛР та дослідження рівня специфічних IgM ВПГ-1 та IgG ВПГ-1; для прогнозування реактивації ВПГ-1-інфекції у пацієнтів із СЗСТ запропоновано використовувати наступні імунологічні чинники - рівень IL-10 в сироватці крові, вміст $CD8^{+}28^{-}$, $CD8^{+}28^{+}$, $CD45^{+}56^{+}69^{+}$ -лімфоцитів в периферичній крові, для прогнозування зростання ступеня активності СЗСТ (вміст $CD8^{+}28^{-}$ лімфоцитів в периферичній крові, рівень IFN- γ в сироватці крові, IFN- α у слині) та для прогнозування частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції, рівень IFN- α (слина), IFN- γ , IL-10 в сироватці крові, вміст $CD3^{+}HLA^{+}DR^{-}$, $CD4^{+}CD25^{+}$, $CD8^{+}28^{-}$ лімфоцитів в периферичній крові); пацієнтам із реактивованою ВПГ-1-інфекцією залежно від частоти її рецидивів на рік запропоновано додавати до лікування ацикловір та/ або інозин пранобекс за чітко сформованою схемою, застосування якої продемонструвало ефективність запропонованої терапії.

Теоретичні та практичні узагальнення викладені автором у актах впровадження, які використовуються у різних медичних закладах Львова.

Із недоліків роботи слід зазначити наступні: у деяких розділах дисертації доречним було б змінити стиль викладання матеріалу, а результати деяких порівнянь описати тільки в тексті дисертації, а не зображати на рисунках (3.25, 3.28, 3.31). Також доцільно було б провести аналіз особливостей фагоцитарної активності імунокомпетентних клітин у досліджуваних групах хворих. У розділі узагальнення результатів дослідження варто було би порівняти отримані результати із результатами досліджень інших авторів. Але загалом вищевказані зауваження не є принциповими та не впливають на наукову та практичну цінність дисертації

При детальному ознайомленні з положеннями дисертації виник ряд запитань:

1. Як Ви можете пояснити механізм протівірусної дії IFN- α на клітини інфіковані вірусом простого герпесу 1 типу?

2. Як Ви пояснюєте зниження експресії молекули CD28 на лімфоцитах у пацієнтів із СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції та збільшення їх експресії після проведення лікування?

3. Які практичні рекомендації можна дати пацієнтам у яких виявлений високий ризик реактивації герпетичної інфекції 1 типу?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Горбаль Наталі Миронівни на тему «**Особливості імунної відповіді у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції першого типу та тактика їх ведення**», представлена до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.051.33 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук є самостійною завершеною науково-дослідною працею та містить наукові положення та науково обґрунтовані результати.

Дисертаційна робота Горбаль Н.М. 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) щодо кандидатських дисертацій, а її автор – Горбаль Наталя МIRONІВНА заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

Доктор медичних наук, професор
кафедри загальної та
клінічної імунології та алергології
Харківського національного
університету імені В.Н. Каразіна



Микола ПОПОВ

Засвідчую
Підпис засвідчую
Начальник служби управління
персоналом


