

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри інфекційних хвороб
з епідеміологією Сумського державного університету МОН України

Чемича Миколи Дмитровича

на дисертаційну роботу здобувача кафедри інфекційних хвороб
Запорізького державного медичного університету МОЗ України

Калашника Кирила Вадимовича

на тему: «Діагностична значимість поліморфізму генів інтерлейкінів в розвитку
змішаної кріоглобулінемії при хронічному гепатиті С та прогнозуванні
ефективності противірусного лікування»,

представлену до захисту у спеціалізовану Вчену раду ДФ 17.600.021
Запорізького державного медичного університету, що утворена наказом МОН
України від 20.01.2021 р. №72 для розгляду та проведення разового захисту
дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона
здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

Актуальність теми дисертації

Вірус гепатиту С (ВГС) є однією з найчастіших причин хронічного ураження печінки у світі. Згідно з оцінкам ВООЗ у світі нараховується 71 мільйон хворих на хронічний вірусний гепатит С (ХГС), при цьому найбільша розповсюдженість цієї недуги спостерігається у Східному Середземномор'ї та Європейському регіоні. Роль ВГС є доведеною у розвитку HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії та обумовленого нею кріоглобулінемічного синдрому.

Однією із відомих ланок імунопатогенезу розвитку змішаної кріоглобулінемії є надмірна антигенна стимуляція В-лімфоцитів та зниження порогу їх чутливості до апоптозу. Змінені В-лімфоцити починають неконтрольовано продукувати змішані кріоглобуліни, що разом із циркулюючими імунними комплексами відкладаються у дистальних судинах та ініціюють автоімунне запалення. Клінічно

цей процес виявляється тріадою симптомів, а саме вираженою загальною слабкістю, артралгією та шкірною пурпурою переважно на дистальних відділах ніг. Проте, на сьогодні, усі ланки патогенезу HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії недостатньо вивчені.

Одним із факторів впливу на розвиток та диференціювання В-лімфоцитів є ІЛ-6. Він приймає участь у регуляції імунної відповіді у якості прозапального цитокіну. ІЛ-17 на сьогодні розглядається як багатофункціональний регулятор імунної відповіді який також впливає на В-лімфоцити. Активність зазначених інтерлейкінів може змінюватися під впливом генетичних факторів, а саме – однонуклеотидних поліморфізмів.

Після винайдення противірусних препаратів із прямим механізмом дії підходи до лікування хворих на ХГС змінились, як у всьому світі, так і в Україні. Згідно Уніфікованому протоколу, до схем терапії з 2015 року був залучений софосбувір (SOF) до схеми peg-IFN+RBV. Тривалість терапії скоротилася до 12 тижнів. Найвідоміший предиктор успішності ПВТ, ІЛ-28В, для схеми peg-IFN+RBV втратив своє значення, тому виникла потреба у пошуку нових індикаторів.

Таким чином, дисертація Калашника К. В., яка присвячена вивченню діагностичній значимості поліморфізму генів інтерлейкінів у розвитку змішаної кріоглобулінемії при хронічному гепатиті С та прогнозуванні ефективності противірусної терапії, є актуальною проблемою сучасної інфектології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота є фрагментом наукової праці кафедри інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету «Оптимізація ранньої діагностики та лікування хворих на найбільш поширені інфекційні захворювання, що перебігають на тлі коморбідної патології у дорослих та дітей» (№ державної реєстрації 0117U006956). У межах зазначеної теми дисертантом особисто проведено підбір, комплексне клініко-лабораторне обстеження, динамічне спостереження та лікування хворих на ХГС.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Основні положення, сформульовані дисертантом, науково обґрунтовані і викладені на підставі поглибленого аналізу джерел літератури, результатів власних досліджень, їх обговорення. Наукові положення, висновки та практичні рекомендації дисертації Калашника К. В. обґрунтовані всебічним дослідженням 149 хворих на ХГС та 45 практично здорових осіб із застосуванням комплексних загально-клінічних, лабораторних, імуноферментних, молекулярно-генетичних методів дослідження. Використані сучасні статистичні методи аналізування отриманих результатів. Застосовані дисертантом методи дослідження адекватні поставленій меті та завданням.

У роботі наведено 38 таблиць та 15 рисунків, а також 2 клінічних випадки, що підтверджує обґрунтованість та достовірність основних положень, висновків та рекомендацій дисертаційної роботи. Перелік використаної літератури містить 241 джерело, із них 28 кирилицею, та 213 латиницею. Матеріали дисертації достатньо висвітлені у наукових публікаціях, впроваджені у практику охорони здоров'я та навчальний процес.

Таким чином, основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації, висвітлені у дисертації Калашника К. В. відображають повний обсяг отриманих результатів, є обґрунтованими та достовірними.

Новизна дослідження та одержаних результатів

Дисертантом на підставі аналізу отриманих даних встановлено клініко-патогенетичне значення поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795) у розвитку змішаного кріоглобулінемічного синдрому у хворих на ХГС. Був виявлений зв'язок між генотипом CG/GG поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795) та нижчою ефективністю ПВТ за схемою peg-IFN α +SOF+RBV з наступною оцінкою формування СВВ 24.

Поглиблено уявлення щодо прогностичних факторів ефективності ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією та з'ясовано особливості динаміки імунологічних змін при проведенні лікування за схемою peg-IFN α +SOF+RBV.

Уточнені наукові дані про імунопатогенез HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії, зокрема, у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією за наявності CG/GG-генотипів поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795) імунологічні порушення найбільш виражені.

Теоретичне значення отриманих результатів

Отримані основні положення та результати дисертаційної роботи дозволили поглибити та деталізувати дані щодо імунопатогенезу ХГС та HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії, наведено дані щодо впливу однонуклеотидного поліморфізму на перебіг захворювання та прогнозування успішності завершення ПВТ.

Практичне значення отриманих результатів

Дисертантом для практичного використання розроблено рекомендації щодо визначення поліморфізм гену ІЛ-6 у локусі rs1800795 хворим на ХГС для виокремлення пацієнтів з високим ризиком розвитку змішаної кріоглобулінемії. Також запропоновано та впроваджено у практику спосіб прогнозування успішності протівірусної терапії на підставі визначення поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795).

Створено та запропоновано дискримінантну модель для стратифікації хворих на ХГС з високим ризиком відсутності формування СВВ при проведенні ПВТ за схемою peg-IFN α +SOF+RBV.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження у практиці

Основні положення дисертаційної роботи мають важливе значення у клінічному та педагогічному контексті сучасних інфекційних хвороб. Запропоновані автором діагностичні критерії дозволяють спрогнозувати успішність завершення ПВТ за схемою peg-IFN α +SOF+RBV у хворих на ХГС із HCV-асоційованою змішаною кріоглобулінемією.

Отримані результати дослідження впроваджені у практику роботи КНП «Обласна інфекційна клінічна лікарня» ЗОР м. Запоріжжя, КНП «Обласна клінічна інфекційна лікарня» ХОР м. Харків, інфекційного відділення КНП «Вінницька міська клінічна лікарня №1» м. Вінниця, Обласної клінічної інфекційної лікарні м. Івано-Франківськ.

Теоретичні положення дисертації впроваджені у навчальний процес кафедри інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету, кафедри інфекційних хвороб та епідеміології Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету, кафедри інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях

Результати дисертаційного дослідження опубліковані у 19 наукових працях (18 публікацій та 1 патент на корисну модель), з них 7 статей, серед яких 4 – у фахових наукових виданнях України (2 статті відносяться до міжнародної наукометричної бази «Web of Science»); 3 статті – у виданнях інших держав, 1 з яких надрукована у журналі, який обліковується наукометричною базою «Scopus»; 1 стаття у науковому виданні зарубіжної країни, яка входить до Європейського Союзу (Польща); 1 стаття у науковому виданні Республіки Білорусь, 11 тез у матеріалах конгресів та конференцій.

Структура та зміст дисертації

Дисертаційна робота викладена на 222 сторінках, вибудована за класичним типом, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків та практичних рекомендацій, списку використаних джерел, із них кирилицею – 28, латиницею – 213 та додатків. Роботу ілюстровано 38 таблицями, 15 рисунками. Таблиці та рисунки конкретні, містять необхідний матеріал та відповідають змісту роботи.

Вступ написаний повноцінно згідно вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії, містить обґрунтування теми роботи, чітко сформульовану мету та завдання дослідження, методи дослідження, наукову новизну та практичне значення, особистий внесок та публікації за темою дисертації.

Розділ 1 «Сучасні уявлення про механізми формування та особливості клінічних проявів HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії, підходи до противірусного лікування ХГС та предиктори його ефективності» містить 4 підрозділи, у яких у повному обсязі проаналізовано літературні наукові дані щодо патогенетичних механізмів запуску та розвитку змішаної кріоглобулінемії. Висвітлений вплив однонуклеотидних поліморфізмів на перебіг, як інфекційних, так і неінфекційних хвороб. Описані зв'язки поліморфізмів із вмістом цитокінів, що вони кодуєть. Було висвітлено сучасні принципи ПВТ у хворих на ХГС зі змішаною кріоглобулінемією, що використовуються, як в усьому світі, так і в Україні. Дисертантом опрацьована велика кількість сучасних літературних джерел за темою роботи, висвітлені протиріччя у існуючих наукових дослідженнях та проблемні питання, які потребують поглибленого вивчення. Обґрунтований напрямок власного дослідження.

Розділ 2 містить 3 підрозділи та присвячений розкриттю дизайну дослідження та клінічної характеристики обстежених хворих на ХГС, здорових осіб контрольної групи, чітко роз'яснено критерії залучення та виключення з дослідження. У розділі представлений детальний опис використаних сучасних методів загально-клінічного, лабораторного та спеціальних досліджень, обґрунтовано доцільність та адекватність їх використання. Описана схема лікування, яка використовувалась у ПВТ та обґрунтована причина вибору. Описано та обґрунтовано використання у дослідженні методів статистичної обробки даних, які є сучасними та відповідають вирішенню поставленої мети.

Розділ 3 «Клініко-лабораторна характеристика хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму генів інтерлейкіну-6 (rs1800795), інтерлейкіну-17 (rs612242) та наявності змішаної кріоглобулінемії» викладений на

17 сторінках і містить 3 підрозділи, які присвячені впливу поліморфізму генів ІЛ-6 (rs1800795) та ІЛ-17 (rs612242) на клініко-лабораторні ознаки та перебіг ХГС за наявності змішаної кріоглобулінемії. Розділ ілюстровано 3 рисунками. За результатами отриманих даних автором встановлений вплив однонуклеотидного поліморфізму гену ІЛ-6 на хронізацію HCV-інфекції.

У розділі 4 «Взаємозв'язки однонуклеотидного поліморфізму генів інтерлейкінів 6 (rs1800795) та 17 (rs612242) з імунологічними порушеннями та розвитком змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С» наведено дані щодо змін вмісту досліджуваних цитокінів, ревматоїдного фактору (загального, IgM та IgA) залежно від поліморфізму генів ІЛ-6 (rs1800795) та ІЛ-17 (rs612242) та наявності чи відсутності змішаних кріоглобулінів. Вищий рівень ІЛ-6 асоціювався із носійством несприятливого G-алелю поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795). Дисертантом був виявлений зв'язок між вмістом ІЛ-6 у сироватці крові та змішаних кріоглобулінів. Підвищення ІЛ-17 також було встановлено у хворих на ХГС, проте у дослідженні не виявлено зв'язку із поліморфізмом гену що його кодує. Визначені кореляційні зв'язки між імунологічними змінами у крові хворих на ХГС зі змішаними кріоглобулінами та рівнем фібротичних змін у печінці та активністю АСТ. Розділ ілюстровано 4 рисунками та 12 таблицями, складається з 3 підрозділів та завершується резюме. Проведено вичерпний статистичний аналіз отриманих даних із використанням непараметричних методів.

У розділі 5 «Ефективність противірусної терапії лікування хворих на хронічний гепатит С залежно від однонуклеотидного поліморфізму генів інтерлейкінів 6 (rs1800795) та 17 (rs612242), динаміка імунологічних змін при різних результатах лікування та наявності змішаної кріоглобулінемії» дисертантом наведена характеристика динаміки вмісту ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХГС залежно від поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795) протягом курсу ПВТ за схемою peg-IFN α +RBV+SOF. Носійство несприятливого G-алелю поліморфізму гену ІЛ-6 (rs1800795) знижувало частоту досягнення СВВ 24 та асоціювалося із найвищим вмістом ІЛ-6 у сироватці крові за умови наявності біохімічної змішаної кріоглобулінемії. Змішана кріоглобулінемія знижувала швидкість негативізації

HCV-RNA у крові хворих на ХГС. Була оцінена динаміка зміни АЛТ у сироватці протягом кожного етапу проведення ПВТ. Визначені кореляційні зв'язки між поліморфізмом гену ІЛ-6 та негатицією HCV-RNA в крові як на момент завершення лікування, так й досягнення СВВ 24. З метою прогнозування успішності проведення ПВТ за схемою peg-IFN α +RBV+SOF ще до початку лікування, дисертантом було розраховано статистичну модель на основі дискримінантної аналізу, що з високою чутливістю та специфічністю може виділити хворих з найнижчим шансом на негатицію HCV-RNA на момент оцінки СВВ 24. Даний розділ висвітлений на 36 друкованих сторінках, складається з 4 підрозділів, містить 17 таблиць, які відповідають змісту розділу, наведені клінічні випадки із практики та резюме. Ретельно та детально проведено статистичний аналіз отриманих даних.

У розділі 6 наведено узагальнення отриманих даних та порівняння результатів дослідження з існуючими положеннями та уявленнями, висвітленими в літературних наукових джерелах. Розділ надруковано на 18 сторінках, написано професійно, коректно. Продемонстровано навички критичного мислення та співставлення власних результатів із даними, отриманими іншими дослідниками, що свідчить про високий рівень наукової кваліфікації автора.

Висновки добре сформульовані, конкретні, обґрунтовані, повністю відповідають отриманим результатам дослідження, поставленій меті та завданням дослідження. Практичні рекомендації, що запропоновані автором на підставі результатів дослідження, мають безперечну наукову та практичну цінність.

Список використаних джерел (241 джерело) складений відповідно вимогам ДАК та містить друковані праці дисертанта.

Відповідність змісту дисертації встановленим вимогам

Основні теоретичні, наукові та практично-прикладні положення дисертаційної роботи Калашника К. В. відображені у анотації у повному обсязі. Дисертація відповідає спеціальності 222 «Медицина». Дисертаційна робота є завершеною науковою працею.

Поряд з позитивною оцінкою роботи, слід відмітити ряд зауважень:

- 1 У дисертаційній роботі є поодинокі орфографічні та стилістичні помилки, зустрічаються русизми.
- 2 Розділ 1 Сучасні уявлення про механізми формування та особливості клінічних проявів HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії, підходи до противірусного лікування ХГС та предиктори його ефективності, досить об'ємний і викладений на 27 сторінках.
- 3 Не досить коректно побудовані заголовки таблиця 3.9, 4.1-4.5, 4.12, 5.1.
- 4 При наведенні клінічних прикладів використано вираз «амбулаторна карта», а не «карта амбулаторного хворого».

Зазначені вище зауваження і побажання не є принциповими та не зменшують наукову і практичну цінність дисертації.

У дискусії хотілося б отримати відповіді на наступні запитання:

- 1 Чому саме ви використали у своїй роботі визначення поліморфізму генів інтерлейкінів 6 (rs1800795) та 17 (rs612242)?
- 2 Чи бачити ви шляхи впливу на розвиток змішаної кріоглобулінемії при хронічному гепатиті С?
- 3 Можливість використання результатів вашого дослідження у хворих на хронічний вірусний гепатит С у віці до 18 років?
- 4 Яке прикладне значення вашої роботи на даному етапі?
- 5 Перспектива подальшого наукового дослідження?

Висновок

Дисертація Калашника Кирила Вадимовича «Діагностична значимість поліморфізму генів інтерлейкінів в розвитку змішаної кріоглобулінемії при хронічному гепатиті С та прогнозуванні ефективності противірусного лікування» на здобуття ступеню доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», є самостійно виконаною закінченою науковою

роботою, яка реалізована із застосуванням сучасних методів клінічного дослідження, має наукову новизну, практичну значимість, адекватна поставленій меті та завданням. Основні результати, нові наукові положення та висновки, сформульовані у дисертації, повністю опубліковані у наукових працях, відповідають темі дисертації, у роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Зауваження не мають принципового значення і не зменшують наукову та практичну цінність роботи. Дисертація Калашника К. В. повністю відповідає вимогам, передбаченим п. 10, 11 «ПОРЯДКУ проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 6 березня 2019 року (зі змінами, внесеними відповідно до Постанови Кабінету Міністрів України від 21 жовтня 2020 року № 979), відносно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією Сумського державного університету МОН України, доктор медичних наук, професор

Микола Чемич

