

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора біологічних наук, професора кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету
Гарбузової Вікторії Юріївни
на дисертацію здобувача ступеня доктора філософії аспіранта кафедри патологічної фізіології Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України
Сироти Бориса Володимировича
«Механізми розвитку ешерихіозного гастроентероколіту з урахуванням чинників його несприятливого перебігу»,
представлену до захисту в спеціалізовану вчену раду ДФ 76.600.001 Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України, що утворена наказом МОН України від 13.11.2019 № 1415 для розгляду та проведення разового захисту дисертації за здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

Актуальність теми дисертації. Щорічно в світі реєструють близько мільярда діарейних захворювань. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, діарейна хвороба є однією з десяти основних причин смерті населення планети – щороку 3,7 % людей гине від цієї недуги. Ситуація у педіатричній практиці є ще більш небезпечною. Діарея - друга провідна причина смерті у дітей віком до 5-ти років. Діарейні захворювання можуть призвести до серйозних наслідків для здоров'я дитини протягом усього життя, таких як екологічна ентеральна дисфункція, відставання в рості, порушення когнітивного розвитку, зниження імунної відповіді на інфекцію і щеплення, тощо. Однією з найбільш поширених причин діареї у розвинутих країнах є ешерихіози: 20-30 випадків на 100 000 осіб.

Генетичне підґрунтя інтестинальних розладів почали активно вивчати останніми роками. У низці досліджень встановлено асоціації однонуклеотидних поліморфізмів генів із стеатогепатитом і гепатозом печінки, метаболічним синдромом, виразкою 12-палої кишки та раком шлунку, гострим чи загостренням хронічного панкреатиту тощо. Однак менша увага приділялась генетично зумовленій сприйнятливості

макроорганізму до патогенних видів кишкової палички та їх ролі у розвитку кишкового та системного запалення, ендотоксикозу. Окрім того, залишається багато невирішених питань щодо молекулярно-генетичних аспектів імунологічних порушень у хворих на ешерихіозний гастроентероколіт, а їх асоціація з мікробіомом та тяжкістю дисбіотичних змін досліджені недостатньо. Також потребують систематизованого підходу та деталізації механізми розвитку ендотоксикозу у хворих на ешерихіозний ентероколіт у контексті дисрегуляції адаптаційних процесів та дезінтеграції патогенетичного захисту, у т.ч. з урахуванням генетичних предиспозицій, з метою ранньої діагностики і прогнозування тяжкості перебігу недуги та виокремлення груп ризику.

Зважаючи на вище зазначене актуальність теми дослідження Сироти Б.В. «Механізми розвитку ешерихіозного гастроентероколіту з урахуванням чинників його несприятливого перебігу» не викликає сумнівів. А відсутність досліджень про роль генетичних факторів у механізмах розвитку ендотоксикозу та його тяжкості у хворих на ешерихіозний ентероколіт в Україні свідчить про його важливість і перспективність.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась як фрагмент комплексної науково-дослідної роботи кафедри сімейної медицини Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»: «Удосконалення діагностики, прогнозування та профілактики окремих захворювань шлунково-кишкового тракту у хворих на артеріальну гіпертензію з урахуванням предикторів їх несприятливого перебігу» (номер державної реєстрації 0118U001194, 01.2018-12.2022 рр.), співвиконавцем якої є здобувач.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації. Сформульовані у дисертації положення та висновки базуються на достатній кількості клінічного матеріалу (95 хворих з гострим ешерихіозним

гастроентероколітом і 87 практично здорових осіб) із застосуванням сучасних загальноклінічних, біохімічних, інструментальних, мікробіологічних, імуноферментних, молекулярно-генетичних, статистичних методів. Проведені дослідження узгоджені Комісією з питань біомедичної етики ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", не містять даних, які суперечать сучасним вимогам біоетики та морально-етичних норм. Для аналізу отриманих результатів використані сучасні статистичні методи з використанням програмного забезпечення MS® Excel™ 2010, Primer of Biostatistics 6.05 та Statistica™ 7.0. Проведене дослідження повністю відповідає поставленій меті і завданням, висновки логічно відображають встановлені автором закономірності. Факти, які свідчили б про недостовірність отриманих результатів не виявлені.

Новизна дослідження та одержаних результатів. У роботі вперше встановлені нові механізми розвитку ешерихіозного ГЕК з урахуванням поліморфізму генів *HSP70-2* (rs1061581) та *IL-10* (rs1800872), таксонів і антигенної структури ентеропатогенних ешерихій, імунологічного дисбалансу, цитокинової відповіді, змін екосистеми мікробіоти порожнини ТК, ступеня тяжкості ендотоксикозу та товстокишкового дисбактеріозу. Автором встановлено, що у хворих на гострий ешерихіозний ГЕК мутація генів *IL-10* (rs1800872) та *HSP70-2* (rs1061581) у гомозиготному стані зустрічається із частотою 9,47% і 3,16% відповідно, за відсутності такої у групі практично здорових. Вперше виявлено, що за ешерихіозного ГЕК тяжкість дисбактеріозу асоціює із наростанням рівня антитіл класу *IgM* до ядер бактеріальних ендотоксинів. Ризик помірного та високого ступенів ендотоксикозу зростає майже у 5 разів у хворих на ешерихіозний ГЕК носіїв *GG*-генотипу. Уперше дістала подальший розвиток теорія імунологічних розладів у патогенезі гострого колієнтериту: дезадаптація компенсаторних механізмів неспецифічного протиінфекційного захисту супроводжується підвищенням активності афекторної клітинної ланки імунітету через мікрофагальну систему, зростанням реактивної відповіді нейтрофільних

гранулоцитів, на тлі зниження індексу імунологічної резистентності, лімітування активності ефекторної ланки імунної відповіді. Дисертантом вперше встановлено, що у осіб із *AA*-генотипом гена *IL-10* (*rs1800872*) за інфікування патогенними *E.coli* імунологічні механізми розвитку ГЕК реалізуються через зниження неспецифічної резистентності. Автором вперше підтверджено асоціацію поліморфізму промотора гена білка теплового шоку *HSP70-2* (*1267A→G*) із підвищенням рівня *IL-1β* у крові та зниженням концентрації *IL-10*, яке було суттєвішим у носіїв *GG*-генотипу. Натомість поліморфізм промотору гена *IL-10* (*C-592A*) асоціює тільки зі зниженням вмісту *IL-10*, найбільшою мірою у власників мутаційного *A*-алеля.

Теоретичне значення отриманих результатів. Чисельні дослідження з використанням сучасних методик, проведені дисертантом, та отримані результати дозволили поглибити розуміння патогенезу ешерихіозного ГЕК з урахуванням таксонів ентеропатогенних ешерихій, асоціації молекулярно-генетичних чинників з імунологічним дисбалансом, змінами екосистеми мікробіоти порожнини ТК, ешерихіозним ендотоксикозом.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі отриманих даних встановлено найбільш важливі механізми дезадаптації неспецифічної імунологічної відповіді, розвитку ешерихіозного ендотоксикозу, формування цитокінових розладів, через призму змін екосистеми товстокишкового мікробіоценозу та молекулярно-генетичних чинників у хворих на колієнтерит. Отримані автором результати спрямовані на попередження розвитку ускладнень колієшерихіозного ендотоксикозу, проведення персоналізованої корекції лікування таких пацієнтів та вторинної профілактики.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Результати дисертаційної роботи розширюють наукові дані про ролі імунологічних порушень, мікробіологічних змін та молекулярно-генетичних чинників у розвитку ешерихіозного гострого гастроентероколіту. Автором розроблено та впроваджено у практику новий

спосіб генетичної діагностики та прогнозування імунологічних порушень за колієшерихіозного ендотоксикозу (патенти України на корисну модель №117570 та №117583) шляхом визначення якісного і кількісного складу мікрофлори кишечника із додатковим аналізом алельного стану генів *HSP70-2* (rs1061581) та *IL-10* (rs1800872), визначення ступеня тяжкості імунологічних порушень за індексами та коефіцієнтами клітинної і загальної імунологічної реактивності, неспецифічного протиінфекційного захисту та рівня антитіл класу *IgM* до ядер бактеріальних ендотоксинів.

Теоретичні положення дисертації впроваджені в практику наукових досліджень та навчальний процес кафедр фізіології ім. Я.Д. Кіршенבלата, патологічної фізіології, сімейної медицини Вищого державного навчального закладу України "Буковинський державний медичний університет", Харківської медичної академії післядипломної освіти, кафедр патологічної фізіології і загальної практики - сімейної медицини та внутрішніх хвороб Запорізького державного медичного університету, кафедри фізіології та патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету, а також у клінічну практику лікувальних установ міст Чернівці і Кам'янця-Подільського, про що засвідчують відповідні акти впровадження.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.

За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових праць, у тому числі 7 статей у фахових виданнях (4 – у закордонних, у т.ч. 2, що цитуються в наукометричній базі Scopus; 3 – у вітчизняних журналах, рекомендованих МОН України, у т.ч. 2 – одноосібно); 7 тез доповідей – у матеріалах наукових форумів (з них 5 – за кордоном); отримано 2 патенти України на корисну модель; 2 наукові роботи нагороджені грантами від профільного товариства (Мілан, Італія, 2018; Хайдельберг, Німеччина, 2019).

Структура та зміст дисертації. Дисертаційна робота викладена державною мовою на 240 сторінках (162 сторінки основного тексту), складається з анотації, вступу, огляду літератури, 3 розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів,

висновків і списку використаних джерел літератури, який включає 295 найменувань (35 – кирилицею та 260 латиницею), додатку. Рукопис ілюстрований 58 таблицями та 8 рисунками.

У вступі дисертантом логічно і послідовно обґрунтована доцільність проведення дослідження, стисло охарактеризований стан проблеми, доведена її актуальність. Автором грамотно сформульована мета та завдання роботи, окреслений її предмет та об'єкт, визначена наукова новизна, теоретичне та практичне значення отриманих результатів, відображений особистий внесок та наведена інформація щодо проведення апробації дослідження.

Розділ 1 «Сучасні аспекти і механізми ешерихіозного гастроентероколіту», присвячений огляду літератури з питання, що вивчалось, і складається з 3 підрозділів. У першому з яких, автор висвітлює сучасні уявлення про механізми розвитку гострих діарейних захворювань та наводить інфекційну теорію ентеральних порушень. Другий присвячений генетичним аспектам патології імунного захисту захворювань кишківника та ролі генів інтерлейкіну-10 та білка теплового шоку 70-2. У третьому охарактеризовані механізми ендо- та екзотоксикозу за гострих діарейних ешерихіозів, описані методи сучасної діагностики цих захворювань. Огляд літератури закінчується висновком, у якому узагальнено стан проблеми і обґрунтовано доцільність дослідження.

Розділ 2 «Матеріал і методи дослідження» включає опис забезпечення вимог біоетики, критерії включення та невключення у дослідження. Автором дана детальна характеристика дизайну та методів дослідження, що лягли в основу реалізації сформульованих завдань та дозволили отримати нові наукові дані.

Розділ 3 «Роль генів інтерлейкіну 10 (rs1800872) та білка теплового шоку 70-2 (rs1061581) у розвитку колієнтериту» присвячений встановленню ролі поліморфізмів генів HSP70-2 (A1267G) та IL-10 (C-592A) у патогенезі колієнтериту, а також оцінці моделей успадкування даної недуги. Дисертантом показано, що зміни імунно-запальної відповіді організму у

хворих на колієнтерит характеризуються підвищенням синтезу прозапальних цитокінів першого покоління IL-1 β і TNF α на тлі низької продукції протизапального IL-10 і засвідчують окремі механізми формування специфічної імунної відповіді: дисбаланс між високою активністю клітинної ланки імунітету за рахунок Th1 лімфоцитів та макрофагів/моноцитів і недостатню активність гуморальної ланки Th2 системи, та активності В-лімфоцитів.

У розділі 4 «Адаптаційно-компенсаторні механізми неспецифічного протиінфекційного захисту у хворих на колієнтерит» дана характеристика імунно-гематологічних індексів ендогенної інтоксикації, клітинної реактивності, неспецифічної резистентності, адаптаційних реакцій у механізмах розвитку гострих ешерихіозних гастроентероколітів, оцінені інтегральні показники клітинної і загальної імунологічної реактивності, неспецифічного протиінфекційного захисту у хворих на колієнтерит з урахуванням генетичних предиктів.

У розділі 5 «Механізми розвитку гострих діарейних ешерихіозів: мікробіологічна характеристика збудників, мікробіота порожнини товстої кишки, рівень антитіл класу IgM до ядер бактеріальних ендотоксинів» наведений таксономічний склад та антигенна структура ентеропатогенних ешерихій у обстежених хворих, таксономічний склад і популяційний рівень мікробіоти порожнини товстої кишки, плазмовий рівень антитіл класу IgM до ядер бактеріальних ендотоксинів у хворих на гострий діарейний ешерихіоз.

У 6 розділі дисертант наводить аналіз отриманих результатів, коректно порівнюючи їх із відомими даними інших дослідників, подає власне бачення і розуміння проблеми, пояснює встановлені закономірності, що демонструє значення отриманих результатів для сучасної науки.

На підставі отриманих результатів дисертантом сформульовано 6 висновків, які логічно завершують наукове дослідження, витікають з отриманих результатів і повністю відповідають положенням, що були сформульовані в меті та завданнях роботи.

Всі наведені у роботі цифрові дані статистично опрацьовані і проаналізовані. Факти, що викривали б їх недостовірність не виявлені.

Дотримання принципів академічної доброчесності. Ознаки порушення принципів академічної доброчесності відсутні.

Недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення. Визнаючи здобутки дисертаційного дослідження Сироти Б.В, необхідно висловити деякі зауваження, що виникли при аналізі дисертації, які не стосуються суті роботи та наукових положень, що виносяться на захист і мають рекомендаційний характер.

1. Вступ та анотація дисертації дещо перевантажені аббревіатурами.
2. Окремі вирази, що стосуються деяких ланок патогенезу, чи механізмів розвитку за колієнтериту, на мою думку, є не зовсім вдалим (патогенез розвитку, промотор асоціює та ін.).
3. Електрофореграми та характеристику фрагментів рестрикції, наведені у розділі 3, доцільно було б навести у розділі «Матеріал і методи дослідження», де описується методика генотипування хворих.

Після аналізу дисертаційної роботи залишились деякі **дискусійні питання**, на які хотілося б отримати відповіді дисертанта:

1. Враховуючи, що головними індукторами запалення є мікробні ліганди та фактори ушкодження тканини, як Ви вважаєте, які чинники переважали в умовах ентероколіту?
2. Які рецепторні системи (одні з перших) їх розпізнають?
3. Що, на Вашу думку, домінує у впливі на розвиток системних запальних змін у хворих на колієнтерит – вплив мікробних лігандів чи генетичні предиспозиції?

Висловлені зауваження не є принциповими і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, а сформульовані питання демонструють перспективність наукового дослідження такого спрямування.

ВИСНОВОК

Розглянувши дисертаційну роботу Сироти Бориса Володимировича на тему: «Механізми розвитку ешерихіозного гастроентероколіту з урахуванням чинників його несприятливого перебігу» на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» 14.03.04 – патологічна фізіологія, та наукові публікації, у яких висвітлені основні наукові результати дисертації, вважаю, що робота має важливе значення для сучасної медицини і патологічної фізіології, зокрема. Дисертація є самостійно виконаною завершеною науковою працею, у якій отримані науково обґрунтовані результати, що надають нові уявлення про механізми розвитку ешерихіозного гастроентероколіту. У роботі відсутні ознаки порушень академічної доброчесності.

За актуальністю, сучасним методичним рівнем виконання, науковою новизною і практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю та достовірністю наукових положень і висновків, повнотою викладення в опублікованих працях, дисертаційна робота **Сироти Бориса Володимировича «Механізми розвитку ешерихіозного гастроентероколіту з урахуванням чинників його несприятливого перебігу»** повністю відповідає п.п. 10, 11 «ПОРЯДКУ проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 6.03.2019 р. відносно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» (14.03.04 – патологічна фізіологія), а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії.

Професор кафедри фізіології і патофізіології
з курсом медичної біології Сумського
державного університету,
д.б.н., професор



В.Ю. Гарбузова

