

## **ВІДГУК**

**офіційного опонента, доктора медичних наук,  
професора Айзятулова Р.Ф. на дисертаційну роботу**

**Деркач Надії Вікторівни на тему:**

**«Удосконалення персоналізованої діагностики та лікування хворих на  
атопічний дерматит з урахуванням ендотоксин-опосередкованих  
факторів імунопатогенезу», подану на здобуття наукового ступеня**

**кандидата медичних наук за спеціальністю**

**14.01.20 – шкірні та венеричні хвороби**

### **Актуальність**

Актуальність теми дисертації визначається тим, що при atopічному дерматиті відсутнє ефективне лікування, здатне контролювати хворобу в довгостроковій перспективі. На сьогоднішній день практично відсутні препарати для лікування atopічного дерматиту, які можуть модифікувати хронічне запалення або активувати природні супресорні імунні механізми, зокрема шляхом активації регуляторних Т-лімфоцитів. Хоча саме пробіотики можуть мати такі властивості. Молекулярна генетика значно розширила роль мікроорганізмів в патогенезі atopічного дерматиту. Відомо, що дисбіоз мікроорганізмів може призводити до патологічної регуляції імунної відповіді як на локальному так і системному рівнях при різних формах atopічного дерматиту. Ендотоксин або ліпополісахарид (ЛПС) грам-негативних бактерій діє через активацію рецепторів CD14 і TLR-4 на поверхні моноцитів, макрофагів і гранулоцитів та є одним із основних регуляторів імунної відповіді, який впливає на розвиток алергії. В дитячому віці високі концентрації ендотоксину в домашньому пилу захищають від розвитку алергії. Стимуляція ендотоксином рецепторів CD14 і TLR-4 при atopічному дерматиту може призводити до вивільнення прозапальних цитокінів, які можуть індукувати хронічне запалення. Треба відмітити, що пробіотики володіють антагоністичними властивостями щодо активаційних механізмів

запалення, в тому числі і ендотоксин-залежного. Ці препарати модулюють місцеву мікробіоту шлунково-кишкового тракту та імунні реакції за допомогою багатьох механізмів, включаючи пряме інгібування активності кишкових патогенів, зниження рН, індукцію механізму захисту епітелію та модифікацію імунорегуляції за рахунок зменшення прозапальних медіаторів. Було показано, що пробіотичні бактеріальні штами інгібують реакцію клітин Т-хелперів 2 типу та стимулюють продукцію цитокінів Т-хелперами 1 типу. На сьогоднішній день відсутні дані про асоціацію поліморфізму генів рецепторів CD14 (C-159T), TLR-4 (A-896G, 1196 C>T) з ризиком розвитку atopічного дерматиту в українській популяції. Відсутні дані про порівняльну ефективність пробіотиків в залежності від фенотипів atopічного дерматиту, в тому числі асоційованих з поліморфізмом генів рецепторів CD14/TLR-4. Метою дисертаційної роботи було удосконалення персоналізованої діагностики та лікування хворих на atopічний дерматит шляхом виділення груп пацієнтів з імуноглобулін Е-залежною й імуноглобулін Е-незалежною формами, імунопатогенетично обумовленого призначення пробіотиків на основі визначення клінічних критеріїв, параметрів шкірних прик-тестів, концентрації цитокінів у периферичній крові з урахуванням поліморфізму генів рецепторів ендотоксину CD14/TLR-4. Поставленої у роботі мети автор досяг, використовуючи комплексний підхід, об'єднуючи в дослідженнях декілька сучасних науково-медичних дисциплін.

**Зв'язок з науковими галузевими і державними програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота є фрагментом НДР кафедри дерматовенерології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л.Шупика на тему: «Оптимізація алгоритмів діагностики, лікування хронічних дерматозів, новоутворень шкіри та ППСШ з урахуванням впливу фонових патологій, соціальних факторів і чинників довкілля» (державний реєстраційний № 0115U002359, строки виконання 2015-2019 рр.).

**Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків і**

### **рекомендацій, сформульованих у дисертації**

Наукові положення, висновки дисертації, рекомендації є обґрунтованими, оскільки базуються на аналізі 204 літературних джерел, що висвітлюють сучасні аспекти імунопатогенезу, клінічного перебігу, лікування atopічного дерматиту; на адекватному методологічному підході підтверджуються конкретним фактичним матеріалом та вірогідними результатами. Набір клінічного матеріалу здійснювався на базі медичного центру «Євродерм» (м. Київ) в період з 2015 р. по 2019 р. Робота побудована на достатньому первинному матеріалі: у дослідженні взяли участь 96 пацієнтів, хворих на atopічний дерматит, та 90 здорових волонтерів у якості групи контролю. Проведено статистичний аналіз отриманих результатів з оцінкою достовірності відмінностей між групами з застосуванням непараметричних методів дослідження, на підставі яких запропоноване подальше персоналізоване призначення пробіотиків у дорослих хворих на atopічний дерматит.

### **Достовірність наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації**

Сформульовані Деркач Надією Вікторівною основні наукові положення і висновки базуються на даних загальноклінічних досліджень (вивчення скарг, анамнезу життя та хвороби, супутньої патології, провокуючих факторів розвитку захворювання, даних алергологічного анамнезу, оцінки ступеня тяжкості клінічних проявів), інструментальних методів (визначення чутливості до основних мікст-алергенів і харчових продуктів за допомогою шкірних прик-тестів), даних анкетування (дерматологічний індекс якості життя (DLQI)), імунологічних дослідженнях (імуноферментне визначення цитокінів та IgE в периферичній крові), молекулярно-генетичних дослідженнях (визначення поліморфізму C-159T, A-896G, 1196 C>T генів рецепторів CD14/TLR-4 за допомогою полімеразної ланцюгової реакції). Результати згуртовані в рівноцінних групах і підгрупах та мають сучасну математичну обробку. Достовірність первинних матеріалів

перевірена на всіх етапах розгляду роботи.

### **Наукова новизна одержаних результатів**

Вперше авторкою був вивчений поліморфізм генів рецепторів CD14 (C-159T), TLR-4 (A-896G, 1196 C>T) у хворих на atopічний дерматит.

Вперше на достовірно значущому рівні встановлено, що алель C поліморфної ділянки C-159T CD14 рецептора й алель G поліморфної ділянки A-896G TLR-4 асоційовані з підвищеним ризиком розвитку atopічного дерматиту.

Вперше здобувач виявила, що додавання пробіотика до стандартної терапії є ефективним у пацієнтів, хворих на atopічний дерматит, з генотипом CC поліморфізму C-159T гена рецептора CD14.

Вперше авторка запропонувала персоніфікований комплексний підхід до діагностики та лікування хворих на atopічний дерматит шляхом виділення груп пацієнтів з імуноглобулін E-залежною й імуноглобулін E-незалежною формами, імунопатогенетично обумовленого призначення пробіотиків на основі визначення клінічних критеріїв, параметрів шкірних прик-тестів, концентрації цитокінів у периферичній крові з урахуванням поліморфізму генів рецепторів ендотоксину CD14/TLR-4.

### **Практичне значення одержаних результатів**

Встановлено, що додатковими клінічними критеріями для стратифікації IgE-залежного від IgE-незалежного atopічного дерматиту, крім визначення рівня загального IgE, проведення шкірних прик-тестів, є вік пацієнтів і початок розвитку захворювання.

Виявлено, що для прогнозування ризику розвитку atopічного дерматиту раціональним є визначення поліморфізму генів рецепторів CD14/TLR-4. У пацієнтів з генотипом CC або CT (C159T-CD14), AG (A-896G-TLR-4) зростає ймовірність розвитку atopічного дерматиту.

Виявлено, що одночасне встановлення IgE-залежної чи IgE-незалежної форми, ідентифікація генотипів C-159T рецептора CD14, визначення вмісту сироваткових цитокінів ІЛ-4 та трансформуючого фактора росту (ТФР)-β

можуть слугувати додатковими критеріями персоналізованого призначення пробіотиків у дорослих хворих на atopічний дерматит.

Удосконалені підходи до діагностики та лікування atopічного дерматиту шляхом встановлення ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу.

Отримані в ході дослідження дані можуть бути використані в практичній діяльності лікарів дерматовенерологів, у підготовці лікарів різних спеціальностей як на рівні навчання в медичних університетах, так і на рівні закладів післядипломної освіти.

### **Повнота викладення наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації**

Основні результати дослідження та положення дисертації опубліковані в 12 наукових працях, з них 2 одноосібні, 5 - у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 4 тезах доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій, конгресів, з'їздів

### **Оцінка змісту, структури та оформлення дисертації**

Дисертаційна робота побудована традиційно і відповідає існуючим вимогам до оформлення дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 145 сторінках комп'ютерного тексту. Робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, узагальнення й аналізу отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, додатків. Дисертація ілюстрована 39 таблицями, 7 рисунками. Список використаної літератури містить 204 джерела, зокрема 21 – кирилицею, 183 – латиницею.

Назва дисертації, її мета та завдання відповідають спеціальності наукової роботи 14.01.20 – шкірні та венеричні хвороби.

У вступі дисертантка розкриває актуальність обраної проблеми, обґрунтовує доцільність дослідження, чітко формулює мету і задачі дослідження. Відображено зв'язок з науковими програмами, темою НДР кафедри дерматовенерології Національної медичної академії післядипломної

освіти імені П.Л.Шупика, де виконувалась робота.

У розділі 1 «Клінічні та імуногенетичні особливості перебігу atopічного дерматиту (огляд літератури)» представлені дані про епідеміологію та клінічні фенотипи atopічного дерматиту, показана роль імунного запалення в патогенезі захворювання, надана інформація про молекулярно-генетичне прогнозування розвитку та перебігу atopічного дерматиту, наведені дані про модифікацію хронічного запалення під впливом місцевого та системного лікування і описана роль пробіотиків у лікуванні atopічного дерматиту.

У розділі 2 «Матеріали та методи дослідження» показані відомості про протокол та дизайн дослідження, опис основних етапів дослідження, інформацію про методи визначення тяжкості та якості життя у хворих на atopічний дерматит, методику проведення алергопроб, методи визначення вмісту цитокінів та загального IgE, методи визначення поліморфізму генів CD14 та TLR-4, та методи статистичного аналізу

У розділі 3 «Результати власних досліджень. Клінічна характеристика досліджуваних груп» автор представляє загальну характеристику 96 хворих на atopічний дерматит, проводить порівняльний аналіз загальноклінічних пераметрів та анамнестичних даних у двох групах з IgE-залежним та IgE-незалежним atopічним дерматитом. Здобувач описує алергічний анамнез та аналізує результати шкірних прик-тестів в залежності від розподілу пацієнтів на групи з IgE-залежним та IgE-незалежним atopічним дерматитом. Виявлено, що додатковим клінічним критерієм для диференціації імуноглобулін E-залежної й імуноглобулін E-незалежної форм atopічного дерматиту може бути вік хворих. Встановлено, що початок захворювання після 19 років більш характерний для пацієнтів з імуноглобулін E-незалежною формою atopічного дерматиту. Виявлено, що для імуноглобулін E-незалежного atopічного дерматиту характерні загострення взимку, в той час як імуноглобулін E-залежного – навесні та влітку. За результатами шкірних прик-тестів у пацієнтів з імуноглобулін E-

залежним atopічним дерматитом виявлена сенсibilізація до класичних алергенів.

**У розділі 4 «Цитокіновий профіль та поліморфізм генів у хворих на atopічний дерматит»** вивчався профіль цитокінів імунної відповіді 1 та 2 типу при розподілі на IgE- залежний та IgE- незалежний atopічний дерматит, та поліморфізм гену CD14 C-159T, та генів TLR-4 Asp299Gly та Thr399Ile в асоціації з ризиком розвитку atopічного дерматиту та рівнем цитокінів у периферичній крові. Автором встановлено, що хронічне запалення при atopічному дерматиті асоціюється з підвищенням у периферичній крові фактора некрозу пухлин  $\alpha$ , медіаторів імунної відповіді 1/2-го типу, і зниженням супресивних цитокінів порівняно з контролем. Автором було встановлено, що розвиток atopічного дерматиту з алелем C поліморфної ділянки C-159T CD14 рецептора. Також ризик розвитку atopічного дерматиту залежить від поліморфізму A-896G (Asp299Gly) гена TLR-4 рецептора та підвищений за наявності алеля G. Автор виявила, що за наявності генотипу CC поліморфної ділянки C-159T гена рецептора CD14 для пацієнтів з імуноглобулін E-залежним atopічним дерматитом характерні високі рівні загального імуноглобуліну E, інтерлейкіну-5 і низькі – інтерлейкіну-10, трансформуючого фактора росту- $\beta$  порівняно з іншими генотипами. Знижений ризик розвитку atopічного дерматиту за наявності алеля T характеризується низькою концентрацією інтерлейкіну-5 і високою – інтерлейкіну-10, трансформуючого фактора росту- $\beta$  відносно гомозиготного генотипу CC.

**У розділі 5 «Порівняльна ефективність контролюючих препаратів»** вивчався вплив пробіотика на важкість перебігу хвороби, якість життя та імунні параметри з урахуванням генотипів CC та CT при поліморфізмі гену CD14 (C-159T). Автор встановила, що додавання пробіотика до стандартної терапії atopічного дерматиту (мазь флютиказону пропіонат 0,005%, емолієнт) протягом 28 днів значно підвищує ефективність лікування імуноглобулін E-залежного atopічного дерматиту у хворих з генотипом CC.

У розділі «Аналіз та обговорення отриманих результатів» здобувач дає узагальнюючий аналіз результатів власних досліджень та дає їм теоретичне обґрунтування. Автору вдалося показати і виділити свій оригінальний внесок у проблему в цілому. Дисертація побудована за класичним принципом і за своєю структурою повністю відповідає всім вимогам до дисертаційних робіт. Висновки логічно впливають зі змісту роботи, достатньо обґрунтовані. У них відображені всі результати дослідження. До додатків дисертації включено: акти впровадження результатів роботи у науковій та практичній діяльності, список публікацій здобувача за темою дисертації, відомості про апробацію результатів дисертації.

В ході рецензування дисертаційної роботи та огляду автореферату виникло кілька зауважень, а саме:

У дисертаційній роботі зустрічається повторення деяких положень, що не зменшує наукової та практичної цінності роботи та не заважає стилю її викладення. Також зустрічаються поодинокі стилістичні помилки в тексті дисертації, які легко можуть бути виправлені.

В цілому наведені зауваження не мають принципового характеру і не зменшують наукового та прикладного значення дисертаційної роботи.

Задля уточнення окремих положень дисертаційного дослідження необхідно одержати відповіді на наступні питання:

1. Якими були критерії вибору пробіотику на 3-му етапі дослідження?
2. Чим обумовлена тривалість прийому пробіотику - 28 днів?
3. Чому не порівнювалась ефективність стандартної терапії+ пробіотик зі стандартною терапією в групі з генотипом ТТ гену С159Т, а лише в групі з генотипом СС?

**Також є наступні побажання:**

Бажано видати методичні рекомендації та інформаційний лист стосовно клініки, діагностики та лікування пацієнтів на atopічний дерматит.

У цілому робота заслуговує позитивної оцінки.



## Висновок

Дисертаційна робота Деркач Надії Вікторівни на тему: «Удосконалення персоналізованої діагностики та лікування хворих на atopічний дерматит з урахуванням ендотоксин-опосередкованих факторів імунопатогенезу», подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.20 – шкірні та венеричні хвороби, є завершеною, самостійно підготовленою науковою роботою, в якій вирішується важливе наукове завдання, що полягає в ефективному моделюванні хронічного запалення при atopічному дерматиті, з урахуванням індивідуальних імуногенетичних особливостей пацієнтів.

Актуальність дисертаційної роботи, наукова новизна, високий методичний рівень, обсяг проведених досліджень, достовірність отриманих результатів, обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій дають можливість зробити висновок, що виконана робота повністю відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24 липня 2013 року (із змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015, №1159 від 30.12.2015, № 567 від 27.07.2016) відносно кандидатських дисертацій за спеціальністю 14.01.20 – шкірні та венеричні хвороби, а її автор заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук.

### Офіційний опонент:

завідувач кафедри дерматовенерології та косметології Донецького національного медичного університету (м.Лиман, Україна), Заслужений діяч науки і техніки України, д. мед. н., професор



Айзятұлов Р.Ф.