

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу *Дорофєєвої Ганни Андріївни* на тему – «Виявлення діагностичних молекулярно-біологічних маркерів генома і мікробіому розвитку неспецифічного виразкового коліту у пацієнтів похилого вік», представленої в спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03 при Харківському національному медичному університеті на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Актуальність теми дисертації. Неспецифічний виразковий коліт (НВК) займає одне з провідних місць в структурі хвороб шлунково-кишкового тракту, а за важкістю протікання та частотою ускладнень є нерідко причиною збільшення терміну непрацездатності, інвалідності і навіть смерті хворих. Особливості етіології і патогенезу НВК до кінця не з'ясовані, що ускладнює ранню діагностику хвороби і, відповідно, є причиною затяжного перебігу захворювання і більш складних консервативних схем лікування, і не виключає хірургічного втручання. Відповідно сучасного погляду, до основних патогенетичних факторів розвитку НВК належить надмірна імунна відповідь на бактеріальні антигени кишечника у генетично схильних осіб.

Відомо, що, НВК найчастіше маніфестує у молодому віці – 20-25 років, однак, в останні роки відзначається тенденція до збільшення вперше виявленого НВК у осіб старшої вікової групи 55-65 років. Причиною цього може служити поєднання певних провокуючих чинників (генетична схильність, вплив несприятливих факторів довкілля, порушення харчування, алергізація і прийом лікарських препаратів), що і призводить до розвитку НВК у другій половині життя і зумовлює клінічні особливості його перебігу: більш часті госпіталізації та все більш ранню потребу в стероїдних препаратах.

Це обумовлює необхідність пошуку факторів, які на тлі генетичної схильності могли б викликати запальний процес у кишечнику і зумовлювати розвиток НВК. Припускається, що у генетично схильних індивідуумів

кишковий мікробіом викликає посилену імунну відповідь слизової оболонки, внаслідок чого відбувається пошкодження тканин кишечника, яке посилюється під впливом інших факторів. У контексті цих досліджень, у представленій роботі вивчено зміни складу кишкового мікробіому, стану слизового бар'єру кишечника у хворих НВК та деякі генетичні особливості при ранньому та пізньому початку захворювання.

Вивчення молекулярно-біологічних маркерів для ранньої діагностики НВК дозволить своєчасно виявити захворювання, оцінити стан хворого, прогнозувати перебіг НВК, та розробити індивідуалізовану терапію, що підтверджує актуальність роботи Г.А. Дорофєєвої.

Виходячи з наведеного вище можна відзначити, що мета представленої на захист дисертаційної роботи - патогенетичне обґрунтування удосконалення діагностики НВК у пацієнтів похилого віку на основі виявлення молекулярно-біологічних маркерів геному людини та особливостей стану кишкового мікробіому є доречною та актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри терапії Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика за темою: «Клініко-патогенетичні аспекти діагностики та лікування хворих з поєднаною патологією внутрішніх органів (захворювання серцево-судинної системи, органів травлення, ендокринної системи)» (№ держреєстрації 0119U101507).

Новизна дослідження та одержаних наукових результатів. Дисертантом встановлені генетичні особливості з визначенням поліморфізму генів NOD2/CARD, TOLL - подібних рецепторів (TLR2/TLR3/TLR4), IL10, JAK2 у хворих на НВК з раннім та пізнім дебютом захворювання. Також автором вперше оцінено зміни слизового бар'єру кишечника з урахуванням синтезу слизу та вмісту муцинів MUC -2,3,4 та трефойлового фактору-3 у хворих на НВК української популяції в залежності від генетичної схильності.

Автором проаналізовані порушення кишкового мікробіому з оцінкою змін кишкових енетеротипів та регуляторної флори, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila*, у хворих на НБК різного віку в залежності від генетичної схильності.

Дисертанткою доповнено обґрунтування щодо ефективності та значущості застосування неінвазивних, скринінгових тестів для оцінки змін кишкової мікробіоти, зокрема дихального тесту з лактулозою в діагностиці мікробіологічних порушень при НБК; розширено патогенетичне обґрунтування застосування змін фекального кальпротектину для диференційної діагностики різних форм НБК у хворих з раннім та пізнім початком захворювання.

Практичне значення одержаних результатів. Практичне значення одержаних результатів Г.А. Дорофєєвої полягає у впровадженні: (1) генетичних методів з визначенням поліморфізмів генів NOD2/CARD, TOLL - подібних рецепторів (TLR2/TLR3/TLR4), IL-10, JAK2 для оцінки особливостей перебігу НБК у хворих різних вікових груп; (2) комплексного аналізу змін мікробіому у хворих на НБК із застосуванням скринінгового дихального тесту з лактулозою, визначенням кишкових енетеротипів, регуляторної флори *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila*, для оцінки тяжкості НБК та, можливо, підбору алгоритму лікування.

Отримані матеріали використовуються в науково-практичній діяльності в Україно-німецькому противиразковому гастроентерологічному центрі “БІК-КІІВ”; ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України»; КП «Полтавська обласна клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського Полтавської обласної ради»; у освітній процес кафедри внутрішньої медицини №4 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; ДЗ «Дніпропетровська Медична академія МОЗ України»;

Оцінка змісту дисертації та повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій. Дисертаційна робота побудовано за загально прийнятим планом, оформлена згідно чинних вимог МОН України,

викладена на 202 сторінках друкованого тексту українською мовою. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу й обговорення отриманих результатів, висновків та списку використаних джерел літератури, який налічує 362 джерела, серед них 80 – кирилицею та 282 – латиницею. Дисертація ілюстрована 46 таблицями і 14 рисунками.

Назва дисертації відповідає змісту. Мета і задачі добре аргументовані. Всі розділи являють собою високоякісну наукову роботу.

Перший розділ – огляд літератури. В ньому автор провів аналітичний огляд сучасної вітчизняної та зарубіжної літератури, присвяченої проблемі що вивчається. Автор підкреслює основні відомості про етіологію та патогенез НВК, висвітлює морфологічні, генетичні особливості кишечника та мікробіологічні зміни за даного захворювання. Автор демонструє приділяє окрему увагу новим поглядам на проблему що вивчається.

Другий розділ – характеристика хворих та контрольної групи і застосованих методів дослідження. В ньому автор детально описує принципи розподілу хворих на групи та використані лабораторні й інструментальні методи, зокрема: морфологічного, гістохімічного, імуноферментного аналізу, молекулярно-генетичні методи вивчення генетичних поліморфізмів та кишкових ентеротипів.

Третій розділ – присвячений характеристиці хворих на НВК та аналізу факторів, що сприяють формуванню захворювання, а також вивченню морфологічних та гістологічних змін слизової оболонки товстої кишки пацієнтів, що дозволило констатувати тісний кореляційний взаємозв'язок між дебютом захворюваності та показниками концентрації фекального кальпротектину та експресії муцинів .

У четвертому розділі детально розглядаються генетичні особливості та відмінності у групах з різним віком початку НВК. Таким чином при проведенні аналізу зв'язку однонуклеотидних поліморфізмів з розвитком НВК виявлено, що у пацієнтів з раннім дебютом НВК частіше зустрічався

поліморфізм генів Jak2 і IL-10, котрі відповідають за цитокіновий каскад імунної відповіді. Це може обумовлювати більш агресивний перебіг захворювання у хворих з раннім початком НБК. У хворих з пізнім дебютом НБК частіше виявлявся поліморфізм генів патерн-розпізнавальних сигнальних рецепторів TLR2, TLR3 і TLR4, а також цитоплазматичних PRR - NOD2/Card15, що може модифікувати імунну відповідь і сприяти індукуванню розвитку НБК.

В п'ятому розділі вивчались особливості кишкового мікробіому у пацієнтів з НБК різних вікових груп. Відзначалося, що при ранньому дебюті НБК домінує зниження *Firmicutes* при зростанні *Actinobacteria*, а у хворих з пізнім початком НБК зниження *Bacteroidetes* при значному зростанні іншої умовно-патогенної флори. Рівень регуляторної флори *Akkermansia muciniphila* і *Faecalibacterium prausnitzii* у хворих на НБК знижувався. У пацієнтів з раннім початком НБК превалювало зниження *Akkermansia muciniphila*, а у хворих з пізнім початком – *Faecalibacterium prausnitzii*. Зміни кишкового мікробіому реалізувалися під впливом стресів і факторів довкілля, та корелювали з генетичними поліморфізмами. Виявлено що у пацієнтів з пізнім дебютом НБК та поліморфізмом IL-10 відзначається значне зниження *Bacteroidetes* при зростанні *Actinobacteria*. А кількість *Faecalibacterium prausnitzii* у хворих на НБК з поліморфізмом генів IL-10 і TLR4 перевищують середньогрупові показники, що може відображати компенсаторні мікробіологічні можливості кишкового мікробіому в умовах запалення і дисбіозу.

В розділі «Обговорення результатів дослідження» автор аналізує отримані данні, проводить кореляційний аналіз отриманих експериментальних даних та порівнює його з літературними відомостями.

Висновки відповідають отриманим результатам та меті дослідження і ґрунтуються на положеннях дисертації. Список використаних літературних джерел охоплює останнє десятиріччя. Робота гарно ілюстрована малюнками та таблицями.

Повнота викладу основних положень дисертації в опублікованих працях. Г.А. Дорофєєвой за матеріалами дослідження опубліковано 16 статей, з яких 5 публікацій реферується БД Scopus.

Ідентичність змісту автореферату та основних положень дисертації. Автореферат дисертації за змістом та формою відповідає вимогам ДАК України та містить усі положення дисертації.

Матеріали для наукової дискусії. Питання, пропозиції та зауваження. В процесі вивчення дисертаційного дослідження виникли наступні запитання:

1. Чи можна надати більш детальне наукове обґрунтування провідної ролі невживання перших страв як чинника розвитку НВК у більш ранньому віці в порівнянні з іншими харчовими звичками.

2. Чим Ви можете пояснити вірогідно менші показники рівня фекального кальпротектину у пацієнтів з пізнім дебютом НВК у порівнянні з раннім дебютом? Які, на Вашу думку, механізми лежать в основі даного явища?

3. Як Ви можете пояснити вірогідно вищий, майже у 2 рази рівень MUC 3 та MUC 4 при 1му ступені активності захворювання у пацієнтів з пізнім дебютом у порівнянні з пацієнтами з раннім дебютом.

4. Чи можуть зміни кишкового мікробіому бути раннім маркером виникнення НВК?

Рекомендації. 1. Було б доцільно і більш репрезентативно на одному рисунку порівнювати показники при ранньому та пізньому дебютах за єдиною шкалою, зокрема це стосується рис 3.6. «Відсоткове співвідношення забарвлених келихоподібних клітин...». 2. Представлення результатів дисертаційного дослідження мало б більш впливовий характер, якщо б дисертантка навела узагальнюючу схему-порівняння ролі різних молекулярно-генетичних факторів в патогенезі раннього та пізнього дебютів НВК. 3. У тексті дисертації зустрічаються поодинокі русизми та невдалі фразеологічні звороти.

Вищенаведені питання і побажання не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, адже вони стосуються переважно її оформлення та інтерпретації результатів.

Загальний висновок.

Зважаючи на актуальність теми, наукову новизну одержаних даних, теоретичне і практичне їх значення, високий методичний рівень проведених досліджень та інші позитивні якості дисертаційної роботи Ганни Андріївни Дорофєєвої «Виявлення діагностичних молекулярно-генетичних маркерів геному і мікробіома розвитку неспецифічного виразкового коліту у пацієнтів похилого віку», вважаю, що вона відповідає вимогам п.п. 11, 12, 13 “Порядку присудження наукових ступенів”, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р., № 567 (зі змінами), і може бути рекомендована для представлення до Спеціалізованої вченої ради по захистам дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Начальник науково-дослідної частини
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка,
доктор біологічних наук, професор

Ганна ТОЛСТАНОВА

