

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

**доктора медичних наук, доцента, в.о. завідувача кафедри неврології і
рефлексотерапії НМАПО імені П. Л. Шупника**

Чуприни Генадія Миколайовича

**на дисертаційну роботу асистента кафедри неврології Львівського
національного медичного університету імені Данила Галицького**

Гички Катерини Миколаївни

**«Розсіяний склероз: дослідження коморбідної патології та розробка
діагностично-прогностичних критеріїв з використанням гліканових
маркерів імуноглобулінів»,**

представлену до захисту у разову спеціалізовану вчену раду

ДФ 35.600.008

**Львівського національного медичного університету імені Данила
Галицького, що утворена наказом**

**МОН України від 04.12.2020р. №1502 для розгляду та проведення
разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі
знань 22- «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».**

1. Актуальність обраної теми дисертації

Розсіяний склероз (РС) є хронічним автоімунним захворюванням центральної нервової системи, на яке страждають люди переважно молодого віку, та яке неминуче призводить до інвалідності. В останні роки відзначається зростання показників захворюваності на РС, що пов'язано із вдосконаленням діагностичних методів, а також із абсолютним зростанням кількості хворих. За поширеністю серед неврологічних захворювань РС посідає четверте місце після гострих порушень мозкового кровообігу, епілепсії та паркінсонізму, а у молодому віці - друге місце після епілепсії. РС було описано більше ніж 150 років тому, проте тільки в кінці ХХ століття стали можливими ефективні методи його клінічного дослідження та патогенетичного лікування. Але багато аспектів патогенезу, клінічного перебігу, діагностики, прогнозу та лікування цього захворювання і

зараз не є досконалими і потребують подальшого вивчення. Так, аналізи крові та цереброспінальної рідини (ЦСР) є надзвичайно важливими для встановлення достовірного діагнозу РС та його прогнозу, тому нові їх біомаркери повинні сприяти оцінці активності захворювання, терапевтичному його моніторингу, а також більш точним прогностичним висновкам.

Зважаючи на зростання захворюваності і поширеності РС як взагалі у світі, так, зокрема, і в Україні, швидкі темпи і високий ступінь інвалідизації, зрозуміла зацікавленість світової неврологічної спільноти до розв'язання найбільш значущих проблем цієї патології.

Важливою в сучасній неврології вважається проблема коморбідності РС з низкою захворювань та станів, що викликає наростання темпів прогресування та зменшення ефективності лікування і вимагає більш глибокого вивчення механізмів впливу коморбідної патології (КМП) на патогенез і перебіг захворювання. Окремі супутні захворювання, або нерідко їх поєднання, присутні у більшості хворих на РС і можуть по-різному відображатись на його перебіг, отже вивчення особливостей їх впливу є важливим і актуальним для сучасної неврології. Таким чином, усе вище викладене дозволяє зазначити, що вибір теми дослідження є своєчасним, а дисертаційна робота Гички К. М., присвячена вирішенню проблеми коморбідності при РС, – актуальною.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри неврології Львівського НМУ імені Данила Галицького "Клініко-патогенетичні особливості захворювань нервової системи різного генезу (розсіяний склероз, епілепсія, вертебрoneврологічні розлади, хвороба Паркінсона) в мешканців Західноукраїнського регіону" (термін виконання 2016-2018 рр., № державної реєстрації 0113U000210), яка виконувалась з 17.01.2018р. по теперішній час в уточненій назві: «Дослідження нових біомаркерів клінічного перебігу розсіяного склерозу» (№ державної реєстрації 0118U000107). Дисертант є виконавцем зазначеної науково-дослідної роботи.

3. Новизна наукового дослідження та одержаних результатів

Отриманні результати роботи мають безумовну наукову новизну. Так, за результатами даного дисертаційного дослідження розширена наукова інформація щодо поширеності та структури КМП при РС, її впливу на прогресування неврологічного дефіциту та тривалість захворювання, появи КМП у часовому зв'язку з першими проявами РС;

- вперше на підставі клініко-неврологічних та імунобіологічних досліджень змін глікозильних детермінант у сироватці крові та лікворі хворих запропоновано нові діагностичні та прогностичні біомаркери РС;
- вперше було клінічно підтверджено, що процес глікозилювання (ГКЗ) імуноглобулінів (Ig) проявляється підвищенням активності РС та корелює із збільшенням тривалості хронічного запального процесу при ньому;
- вперше було показано діагностичну роль дослідження парних зразків сироватки крові та ЦСР хворих на РС щодо змін ГКЗ Ig з використанням лектинів SNA та PSqL, при оцінці переходу клінічно ізольованого синдрому РС в клінічно достовірний РС;
- вперше було запропоновано для визначення аутоімунного процесу при РС застосовувати глікоформи IgG методом капілярного-електрофорезу-індукованої лазером флуоресценції;
- вперше було встановлено, що зміни гліканів Ig у ЦСР та сироватці крові хворих на РС можуть бути використані для підтвердження аутоімунного характеру патологічного процесу при ураженні ЦНС;
- вперше було проведено оцінку діагностично-прогностичного потенціалу змін ГКЗ аутоантитіл до основного білка мієліну (ОБМ) при РС;
- вперше визначено експонування глікозильних залишків на аутоантитілах до ОБМ та загальних антитілах сироватки крові хворих на РС залежно від клінічних особливостей та лікування;
- за результатами дослідження вперше встановлено важливість процесів ГКЗ антитіл у сироватці крові та ЦСР хворих на РС, як з позиції їх ключової ролі

в патогенезі РС, так і у якості надійного біомаркера його активності і прогресування.

Також наукова новизна отриманих результатів дослідження полягає в тому, що вперше, використовуючи сучасні імунобіологічні методи, знайдено нові біомаркери, які дозволяють покращити діагностику РС, а також оцінити ефективність лікування.

4. Теоретичне значення результатів дослідження

Результати дисертаційної роботи надають нові уявлення щодо патогенезу РС на тлі КМП. Важливим теоретичним здобутком роботи є характеристика природи Ig, що з'являються у сироватці крові та ЦСР при РС, яка закладає наукові основи до відслідковування та спрямованого впливу на патологічний чинник цього захворювання.

5. Практичне значення результатів дослідження

У ході виконання дисертаційної роботи Гичкою К. М. встановлено двосторонній зв'язок КМП із розвитком РС: було показано, що не лише РС впливає на перебіг супутніх захворювань, а і вони роблять перебіг РС важчим. Було побудовано структуру КМП за класами у хворих на РС залежно від віку, статі, ступеня інвалідизації та відношення до дебюту РС. Також було обгрунтовано доцільність проведення комплексного клініко-неврологічного та імунобіологічного обстеження хворих на РС і в процесі дослідження доведено, що глікозилювання імуноглобулінів є важливим діагностичним маркером при РС, так як визначення вказаних показників у сироватці крові є набагато простішим та доступнішим методом діагностики у порівнянні з дослідженням ліквору. Крім того, автор дисертації з'ясувала, що у хворих на РС під впливом терапії інтерфероном β -1В відмічається зменшення рівня антитіл до основного білка мієліну класів IgG та IgM, у порівнянні з нелікованими хворими.

6. Ступінь обгрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації

Усі положення, висновки, рекомендації, що містяться в дисертації, науково обгрунтовані, достовірні, логічно витікають із результатів досліджень.

Мета, об'єкт і предмет дослідження відповідають обраній темі дисертації. Робота виконана на сучасному науково-методичному рівні із застосуванням принципів доказової медицини. Методики, що використані автором в дослідженнях, сучасні. Наукові положення, висновки, рекомендації, які сформульовані у дисертації, ґрунтуються на достатньому фактичному матеріалі.

У процесі роботи було обстежено 141-го хворого на РС шляхом проведення клініко-неврологічного (з детальним проведенням соматичного огляду для виявлення комор бідної патології), клініко-анамнестичного нейровізуалізаційного, імунобіологічного досліджень. При даній патології кількість клінічних спостережень і проведених досліджень є цілком достатньою для адекватної статистичної обробки і дозволяє вважати отримані результати достовірними. Статистична обробка результатів дослідження проведена на сучасному рівні, коректно, за допомогою стандартних програм статистичного аналізу: OriginPro (OriginLab), Prism7 (GraphPad) та Excel (Microsoft). Наведені в роботі таблиці, малюнки переконливі. Висновки дисертаційної роботи відповідають поставленій меті і завданням дослідження, достовірно обґрунтовані та повністю відображають її зміст.

Вважаю, що висловлені в роботі положення, наукові рекомендації, є науково обґрунтованими.

7. Оцінка змісту, оформлення й обсягу дисертації, зауваження щодо оформлення

Дисертація Гички К. М. викладена українською мовою на 198 сторінках друкованого тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу матеріалу та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел. Робота ілюстрована 6 таблицями та 48 рисунками. Список літератури містить 259 джерел (41 кирилицею та 218 латиницею).

Представлення результатів роботи за розділами є логічним і відповідає етапам дослідження та поставленим завданням.

У вступі дисертантом логічно і послідовно обґрунтована доцільність проведення дослідження, викладена мета та завдання, окреслені предмет та об'єкт дослідження. Сформульована наукова новизна і практичне значення отриманих даних, відображений особистий внесок автора в одержанні наукових результатів та наводиться інформація щодо проведення апробації дисертації.

Основна частина дисертації розпочинається з *аналітичного огляду літературних джерел* «Сучасні погляди на патологічні механізми розвитку розсіяного склерозу та особливості коморбідних захворювань при цій патології». Цей розділ має 4 підрозділи і включає в себе загальне визначення поняття «коморбідність» та характеристику перебігу РС на тлі різних видів КМП. Також у першому розділі детально проаналізовано питання нейроімунобіології при РС: роль ГКЗ Ig в патогенезі РС, важливість дослідження Ig та біомаркерів у сироватці крові та ЦСР при РС.

Даний розділ написано послідовно, грамотно, в аналітичному стилі, що свідчить про добре знання дисертантом літератури з цього питання, він містить достатню кількість літературних джерел, яскраво підкреслює ерудицію автора.

У *другому розділі* «Матеріал та методи дослідження» автором викладено спеціальну програму дослідження із чотирьох організаційних етапів, на кожному з яких виконувались взаємопов'язані завдання, що забезпечило системність підходу для отримання достовірних даних для оцінки об'єкту дослідження. Представлено методи (клініко-неврологічний, нейровізуалізаційний, імунологічний, статистичний) та дизайн дослідження, джерела отримання інформації, розраховано обсяг вибіркової сукупності дослідження, детально описана послідовність досліджень на кожному із чотирьох етапів та їх зміст.

У *третьому розділі* «Клінічна характеристика обстежених хворих на розсіяний склероз з коморбідною патологією в анамнезі» автором було проведено аналіз анамнестичних даних 77-ми хворих на РС і у підсумку

побудовано структуру КМП за 16-ти класами і 61-му виду нозологій. Автором було виявлено, що в одного хворого з РС в середньому діагностувалось $1,73 \pm 0,14$ випадків супутніх захворювань. Найчастіше у пацієнтів з РС дисертантом діагностовано захворювання органів травлення, хвороби кістково-м'язової системи та сполучної тканини, захворювання органів дихання. Також було встановлено, що у пацієнтів, в яких супутня патологія виникала після дебюту РС, ступінь неврологічного дефіциту (EDSS) була більшою на 17,9% порівняно з групою пацієнтів, в яких вона виникала до дебюту РС. Важливим науковим здобутком цього розділу є з'ясування дисертантом того факту, що переважна більшість випадків виникнення КМП має місце після дебюту РС.

Також автором було встановлено двосторонній зв'язок КМП із розвитком РС і показано, що не лише РС впливає на клінічний перебіг супутніх захворювань, а й супутні захворювання роблять перебіг РС важчим. За результатами аналізу даних, наведених у цьому розділі показано, що у разі мультиморбідності при РС наростають темпи його прогресування та важкість.

Четвертий розділ «Патогенетичне значення змін глікозильних детермінант імуноглобулінів у сироватці крові та цереброспінальній рідині хворих на розсіяний склероз, як маркера запальних процесів при цьому захворюванні» є сам потужним у дисертаційній роботі і важливим для реалізації другої частини мети дослідження та низки завдань.

У цьому розділі дисертантом показано, що зміни ГКЗ IgG визначають їх про- чи антизапальний вплив. Автор доводить, що для РС притаманна поява IgG із зміненим спектром ГКЗ, які володіють патологічними прозапальними властивостями. Послідовно дисертант доводить, що ГКЗ Ig ЦСР достовірно різняться від ГКЗ Ig сироватки крові, і тому відображає досі невідому властивість Ig ЦСР до зміненого ГКЗ: так, було виявлене змінене ГКЗ для фукозовмісних та сіаловмісних гліканів IgG, визначене його важливе діагностичне значення при РС, оскільки детекція вказаних показників у сироватці крові є набагато простішим та доступнішим методом діагностики у порівнянні з дослідженням ліквору.

В четвертому розділі дисертації також було обґрунтовано використання детекції ГКЗ IgG як молекулярного маркера запальних процесів при РС і показано, що саме запальна аутоімунна природа РС призводить до зростання корових фукозилних залишків гліканів IgG, а також запропоновано методи їх ефективною детекції як в ЦСР, так і в сироватці крові.

У п'ятому розділі «Оцінка діагностично-прогностичного потенціалу змін глікозилування аутоантитіл до ОБМ при розсіяному склерозі» автору вдалось клінічно підтвердити, що процес ГКЗ Ig проявляється підвищенням активності РС та корелює із збільшенням тривалості хронічного запального процесу.

Було показано, що зміна ГКЗ антитіл сироватки хворих, що спостерігалась у групах пацієнтів з РС, як нелікованих, так і тих, що зазнавали терапії кортикостероїдами чи інтерферонами, відбувалась внаслідок появи патологічних аутоантитіл. Також дисертант встановила, що отримані дані вказують на важливість виявлення саме патологічних аутоантитіл та оцінки їх ГКЗ як маркера важкості перебігу РС.

Автор дисертації з'ясувала, що у хворих на РС під впливом терапії інтерфероном β -1В відмічається зменшення рівня антитіл до основного білка мієліну класів IgG та IgM, у порівнянні з нелікованими хворими.

Було також показано, що глікан - ліганд лектину AAL на молекулі IgG може слугувати показником тривалості, активності та прогресування РС.

Розділ «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» зосереджений на узагальненні результатів дисертаційної роботи та їх аналізу у порівнянні із іншими подібними науковими дослідженнями.

Висновки та практичні рекомендації аргументовані, повністю спираються на фактичний матеріал, відповідають цілі й завданням дисертаційного дослідження.

Оцінюючи позитивно дисертаційну роботу Гички Катерини Миколаївни, вважаю за необхідне зупинитися на наступних уточненнях та питаннях:

1. Зв'язок супутніх захворювань та станів при РС з важкістю захворювання не завжди є однозначним. Чи можете Ви, спираючись на дані власних або інших досліджень, навести приклади зменшення важкості або покращення перебігу (наприклад, настання ремісії) РС та наявності певного супутнього захворювання чи стану?
2. Яким методам, на Вашу думку, слід надати перевагу у процесі діагностики РС: інструментальним чи лабораторним?
3. Які практичні поради Ви можете надати лікарям-неврологам щодо застосування біомаркерів при РС в клінічній медицині?

8. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях

Результати дисертації опубліковані у 12 наукових працях (3 – одноосібні), з них: 6 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 3 статті – у виданнях, які входять до наукометричних баз Scopus та Web of Science (у т.ч. 2 статті у іноземних виданнях - Великої Британії та Нідерландів), 3 тези доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій.

9. Особистий внесок здобувача в одержанні наукових результатів, що виносяться на захист

Ідея проведення дослідження, мета і завдання сформульовані дисертантом спільно з науковим керівником - Негрич Тетяною Іванівною. Автор - Гичка Катерина Миколаївна - самостійно провела аналіз наукової літератури, визначила методи дослідження за темою дисертації. Також Гичка К. М. самостійно виконала комплексне клініко-неврологічне обстеження хворих на РС, приймала безпосередню участь у проведенні імунобіологічних досліджень за темою дисертації. Самостійно автор здійснила формування та обробку первинної документації, провела статистичну обробку та аналіз отриманих результатів. Гичкою К. М. самостійно написані всі розділи дисертації, сформовані загальні висновки та практичні рекомендації, забезпечено їх висвітлення в періодичних виданнях.

10. Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації)

Під час виконання дисертації Гичка К. М. дотримувалась принципів академічної доброчесності і її дисертація може бути допущена до захисту, що підтверджено висновком комісії з виявлення та запобігання плагіату в Львівському НМУ імені Данила Галицького (довідка № 347 / 2020 від 15.09.2020 р.) За результатами перевірки та аналізу дисертації не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації.

11. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.

Результати дисертації Гички К. М. мають практичне значення як для сучасної клінічної неврології, так і для педагогічного процесу кафедр неврологічного профілю вищих навчальних медичних закладів.

Нові теоретичні положення дисертації використовуються у навчальному процесі низки кафедр: неврології Львівського НМУ імені Данила Галицького, неврології та нейрохірургії Івано-Франківського НМУ, неврології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». Результати дисертаційної роботи впроваджені також в практичну діяльність неврологічних відділень Львівської обласної клінічної лікарні, Волинської обласної клінічної лікарні.

12. Відповідність дисертації спеціальності та профілю спецради.

Дисертація Гички Катерини Миколаївни «Розсіяний склероз: дослідження коморбідної патології та розробка діагностично-прогностичних критеріїв з використанням гліканових маркерів імуноглобулінів» відповідає паспорту наукової спеціальності 14.01.15 – «Нервові хвороби». Дисертація повністю відповідає профілю спеціалізованої вченої ради.

13. Відповідність дисертації вимогам, які пред'являються до наукового ступеня доктора філософії.

Дисертаційна робота Гички Катерини Миколаївни на тему «Розсіяний

склероз: дослідження коморбідної патології та розробка діагностично-прогностичних критеріїв з використанням гліканових маркерів імуноглобулінів» на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» (спеціалізація 14.01.15 – «Нервові хвороби»), є самостійною, завершеною науковою працею, яка містить нове вирішення актуальної проблеми сучасної неврології щодо удосконалення діагностичних підходів та оптимізації лікування хворих на розсіяний склероз в умовах коморбідності. За актуальністю, об'ємом клінічних спостережень, методичним рівнем, науковою новизною та практичним значенням результатів, обґрунтованістю наукових положень і висновків, повнотою викладу матеріалів в опублікованих наукових працях і рівнем впровадження дисертаційна робота Гички Катерини Миколаївни «Розсіяний склероз: дослідження коморбідної патології та розробка діагностично-прогностичних критеріїв з використанням гліканових маркерів імуноглобулінів», повністю відповідає вимогам пп. 10, 11 «ПОРЯДКУ проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою КМУ від 06.03.2019 № 167, 10 відносно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» (спеціалізація 14.01.15 «Нервові хвороби»), а її автор – Гичка Катерина Миколаївна – заслуговує на присудження наукового ступеня доктор філософії.

Офіційний опонент:

В. о. завідувача кафедри неврології

і рефлексотерапії НМАПО імені

П. Л. Шупика, д. мед. н., доцент

Г. М. Чуприна

