

ВІДГУК

офіційного опонента

доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри
інфекційних хвороб Дніпровського медичного університету

Литвин Катерини Юрївни на дисертаційну роботу Надіжко О.М. на
тему: *«Оцінка стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому та
посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу»*,
подану до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії за
спеціальністю 222 Медицина до Вченої ради ДФ 35.600.147, ДНТ «Львівський
національний медичний університет імені Данила Галицького»

Науковий керівник: професор, доктор медичних наук, професор кафедри
клінічної імунології та алергології ДНТ «Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького» Зубченко Світлана Олександрівна.

Актуальність обраної теми дисертації.

Коронавірусна хвороба-19 стала серйозним викликом для системи охорони здоров'я не тільки через високий рівень смертності у розпал пандемії, а також через довготривалі небезпечні наслідки хвороби. SARS-CoV-2 ініціював формування постковідного синдрому (ПКС) (*англ. Post COVID-19 condition, PCC*), який може розвиватися незалежно від тяжкості перенесеної хвороби. Патогенез ПКС залишається не повністю з'ясованим. Обговорюються такі причини як запалення, імунний дисбаланс, пов'язаний із можливою персистенцією вірусу в легенях, серці та центральній нервовій системі; автоімунні механізми; ендотеліальна дисфункція (*M. Hallek et al., 2023*). ПКС асоціюється з очевидним погіршенням якості життя та збільшенням кількості соматичної патології. Приблизно у третини пацієнтів з COVID-19 окремі симптоми спостерігаються довше 12 тижнів і можуть включати неврологічні порушення (хронічну втому, симптоми депресії та тривоги, порушення сну, біль голови нейрокогнітивні розлади тощо), задишку, шлунково-кишкові дисфункції, висипання на шкірі, міалгії, артралгії, субфебрилітет, які не пояснюються альтернативним діагнозом (*R.Astin et al. 2023; O. Y. Bello-Chavolla et al., 2024*).

У формуванні імунopatологічних процесів ПКС не виключають можливу активацію латентних інфекцій. Серед таких інфекційних патогенів найчастіше виявляють представників родини герпесвірусів (*B. Brooks et al., 2022, A. Vojdani et al., 2024*). Припускають, що однією з причин формування неврологічних скарг при ПКС може бути активація вірусу герпесу людини 6 типу (HHV6). Виникає так зване «порочне коло», коли стан імунної системи після COVID-19 (кількісний та функціональний дефіцит клітинної ланки природженого та набутого імунітету) стає причиною реактивації інфекції HHV6, яка, в свою чергу, поглиблює дисрегуляцію імунної системи, що суттєво впливає на перебіг ПКС.

Крім біологічних причин розвитку ПКС широко обговорюється також психосоціальні фактори впливу (*Salzmann S. et al., 2025*), які обов'язково потрібно враховувати в сучасних умовах. Такі чинники призводять до розвитку посттравматичного стресового розладу (ПТСР) з порушенням адаптивних систем (нервової, ендокринної, імунної). Необхідно зазначити, що при ПТСР формується гормонозалежний механізм впливу на імунний захист, що знижує можливість контролю латентних інфекцій, у т. ч. HHV6.

Особливої уваги заслуговують пацієнти з ПКС, ПТСР та одночасною реактивацією HHV6, коли негативний вплив на захисні системи значно посилюється. Важливо зазначити, що подібність симптоматики при означених вище станах вимагає розробки діагностичних критеріїв і особливих підходів до ведення таких пацієнтів. З погляду на це, корисним може бути визначення активності імунокомпетентних клітин (за експресією Fas/FasL, PD-1/і PD-1L, сигнальних систем NK, Т-цитотоксичних лімфоцитів).

Враховуючи вищезазначене, тема наукової роботи Надіжко О.М. є актуальною, сучасною та практично орієнтованою.

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

Дисертаційне дослідження виконане у межах науково-дослідної роботи кафедри клінічної імунології та алергології ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» МОЗ України «Постковідний синдром і посттравматичний стресовий розлад: імунна дисрегуляція і тактика ведення пацієнтів» (№ державної реєстрації 118U000110). Дана дисертаційна

робота органічно вписується в ключові напрямки розвитку медичної науки, окреслені сучасними державними програмами та стратегічними документами у сфері охорони здоров'я. Зміст дослідження узгоджується з положеннями Концепції розвитку системи охорони здоров'я в Україні (затвердженої розпорядженням Кабінету Міністрів України).

Наукова новизна одержаних результатів.

За результатами роботи уперше в Україні: 1) розроблено метод оцінки цитотоксичної функції клітин NK і CD8+ за ступенем експресії рецептора Fas і його ліганду FasL, рецептора PD-1 і ліганду PD1L на мембранах цих клітин; 2) встановлено характер змін противірусної цитотоксичної функції імунних клітин на тлі реактивації HHV6; 3) розроблено метод прогнозу формування імунопатології за змінами експресії інгібіторного рецептора TIM3 та активаційного маркера CD38 на лімфоцитах. Отримано нові знання щодо цитотоксичних функцій NK-клітин і CD8+ при реактивації HHV6 у пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР без/з реактивації HHV6. NK клітини частіше діють шляхом Fas/FasL, внаслідок чого відбувається внутрішньоклітинна деградація ДНК, білків і ліпідів всередині клітини-мішені та її апоптична загибель. Показано, що клітини CD8+ переважно діють через систему PD-1/PD-L1 і запускають апоптоз шляхом Gal-9/TIM-3, який охоплює як поверхневі (Annexin V), так і внутрішньоклітинні процеси. Уперше розроблено алгоритм лабораторного дослідження пацієнта з ризиком тяжчого перебігу постковідного синдрому і формування імунопатології після середнього перебігу COVID-19 на тлі реактивації HHV6. Доведена необхідність визначення таким пацієнтам кількості лімфоцитів CD3+, CD56+, CD8+ та CD4+25+127-, а також експресії на мембранах CD56+ і CD8+ активаційно-регуляторного маркера CD38 та інгібіторного рецептора TIM3. Уперше в Україні для визначення цих показників використано проточну цитометрію.

Практичне значення результатів дослідження.

На основі анамнестичних, клінічних і загально-лабораторних даних авторської анкети було сформовано відповідні групи пацієнтів з ПКС і ПТСР, їх поєднанням, залежно від реактивації герпесвірусу 6 типу. Аналіз клінічних,

загальнолабораторних та імунологічних змін дозволив доповнити дані пацієнтів ПТСП і ПКС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 в анамнезі. Дисертанткою розроблено та запропоновано схему лікування інозин пранобексом (1000 мг) пацієнтів з ПТСП, ПКС та коморбідною патологією (ПТСП+ПКС) протягом трьох місяців з доведенням його клінічної, вірусологічної ефективності та безпеки тривалого вживання. Досліджено, що пацієнти з коморбідною патологією потребують корекції противірусного лікування етіотропного (противірусного) та патогенетичного (імуномодулюючого) лікування. Запропоновано критерії оцінки ефективності терапії згідно з кількісною оцінкою популяцій лімфоцитів, субпопуляцій Т-лімфоцитів ($CD3^+$, $CD56^+$, $CD8^+$ та $CD4^+25^+127^-$) і експресії активаційного маркера $CD38^+$ та інгібіторного рецептора TIM-3 на мембранах лімфоцитів.

Обґрунтованість наукових положень і достовірність результатів.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, викладених у дисертаційній роботі не викликає сумнівів. Підґрунтям є великий обсяг клінічного матеріалу, а саме, пацієнти з постковідним синдромом залежно від ступеня тяжкості перенесеного COVID-19 в анамнезі, пацієнти з ПТСП та поєднаною патологією (ПКС+ПТСП) на тлі активації герпесвірусу 6 типу. Усі етапи дослідження проведені на високому науковому рівні із застосуванням анамнестичних, загальноклінічних, біохімічних, серологічних, молекулярно-генетичних, новітніх високотехнологічних імунологічних методів і коректного статистичного аналізу отриманої інформації. Мета, об'єкт і предмет дослідження відповідають темі дисертації. Висновки дисертаційної роботи узгоджуються з поставленою метою і завданнями дослідження, обґрунтовані та повністю відображають її зміст. Дослідження проводилось згідно з вимогами щодо безпеки пацієнтів, збереження морально-етичних норм, прав та гідності людини відповідно до основних положень GCP, Конвенції ради Європи про права людини і біомедицину та Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації щодо етичних принципів проведення наукових медичних досліджень з участю людей. Дисертаційне дослідження було схвалено комісією з питань етики наукових

досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Результати дослідження були представлені на 16 науково-практичних конференціях і конгресах. А також опубліковані у 18 наукових працях, серед яких 12 статей, з них 6 - у журналах включених до наукометричних баз даних Scopus/Web of science (індексація видань - $Q2$, $Q4$) і 6 - у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 6 тез доповідей.

Оцінка змісту, оформлення та обсягу дисертації.

Дисертація є завершеною науковою роботою, що має класичну структуру і відповідає прийнятним вимогам МОН України. Робота викладена українською мовою на 242 сторінках машинописного тексту. Вона містить анотацію, зміст, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, два розділи власних досліджень, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, який включає 218 джерел інформації, переважна більшість з яких (184) - латиницею і п'ять додатків. Результати роботи продемонстровані у 28 таблицях і 27 рисунках.

Розділи та висновки повністю відповідають меті та завданням дослідження, є обґрунтованими та логічно впливають із отриманих результатів.

В анотації стисло викладено основні положення наукової роботи у відповідності до вимог оформлення.

У розділі «Вступ» дисертанткою розкрито актуальність досліджуваної проблематики, описано зв'язок роботи з науковими програмами та планами, мету і завдання, подано наукову новизну і практичне значення роботи, особистий внесок здобувачки, представлено інформацію про апробацію наукових результатів та публікації згідно отриманих результатів.

У першому розділі представлений огляд фахової вітчизняної та світової літератури. Дисертантка послідовно та аргументовано представила результати аналізу даних сучасних наукових досліджень щодо особливостей клініки, загально-лабораторних та імунологічних показників, що характеризують імунну відповідь пацієнтів з постковідним синдромом та посттравматичним стресовим розладом. У даному розділі представлені актуальні дані про особливості впливу HHV6 на стан імунної та нервової систем. Саме розуміння значущості проблеми

обґрунтовує необхідність вивчення функціонування клітин природженого та набутого імунітету та особливостей імунної відповіді у пацієнтів з ПКС, ПТСР, за умов реактивації герпесвірусу 6 типу.

У другому розділі детально представлені матеріали та методи наукового дослідження. Ілюстрований та описаний дизайн дослідження, що складався з чотирьох етапів. Чітко сформовані критерії включення і виключення для відповідних груп пацієнтів. Для верифікації постковідного синдрому використовували COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19. NICE guideline. www.nice.org.uk/guidance/ng188. ICD-10-CM Diagnosis Code U09.9 (Post COVID-19 condition, PCC, U09.9 за МКХ-10). Стадію COVID-19 визначали за критеріями Clinical management of COVID-19: Living guideline, 18 August 2023 <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-clinical-2023.2>. Для діагностики ПТСР, окрім підтвердження патології фаховим спеціалістом, був використаний опитувальник- Department of Health and Human Services, USA, guideline PTSD Revised 2020 NIMH website www.nimh.nih.gov MedlinePlus (National Library of Medicine) <https://medlineplus.gov>. Детально описані клінічні дані, загальноклінічні та імунні лабораторні показники, методи їх вивчення і використані методи статистичної обробки отриманих даних.

У третьому розділі представлені результати власних досліджень. Він складається з чотирьох великих підрозділів. У першому з яких: «Зміни загальноклінічних та імунологічних показників у пацієнтів з ПКС і ПТСР з/без реактивації інфекції HHV6» проведена оцінка даних клінічних, загальнолабораторних, молекулярно-генетичних, специфічних імунологічних особливостей пацієнтів вищезгаданих груп залежно від вірусного навантаження. Результати вивчення популяцій лімфоцитів і субпопуляцій Т-лімфоцитів підтвердили кількісні зміни, особливо в групі пацієнтів з ПКС після важкого перебігу COVID-19 в анамнезі на тлі реактивації HHV6.

У другому підрозділі «Зміни цитотоксичних та регуляторних функцій NK клітин у пацієнтів з ПКС та пацієнтів з ПТСР з/без реактивації вірусу HHV6» досліджували експресію системи Fas/FasL, активаційно-регуляторного маркера

CD38+ та інгібіторного рецептора TIM-3 у відповідних пацієнтів з/без реактивації HHV6. Доведено, що герпесвірус розбалансовує роботу імунної системи та ґрунтовно впливає на виконання клітинами імунної системи протівірусного нагляду та підтримки клітинного гомеостазу. Отримані результати демонструють найбільші значущі зміни відповідних показників у групі пацієнтів з ПКС після перебігу середньої тяжкості COVID-19 в анамнезі. Проте, і в пацієнтів з ПКС після легкого перебігу COVID-19 в анамнезі на тлі реактивації HHV6 зміни експресії CD38+ та TIM-3 свідчать про можливість ризику формування імунопатологічних синдромів.

У *третьому та четвертому* підрозділах: «Аналіз клінічної, імунологічної та вірусологічної ефективності лікування інозин пранобексом пацієнтів з ПКС, ПТСР та коморбідною патологією ПКС і ПТСР на тлі реактивації HHV6» і «Зміни загальноклінічних та імунологічних показників пацієнтів з ПКС, ПТСР та коморбідною патологією ПКС, ПТСР з реактивацією HHV6 після лікування препаратом інозин пранобекс» представлені результати порівняння до і після тримісячного лікування означеним препаратом пацієнтів відповідних груп з реактивацією HHV6. Найвища імунологічна ефективність була відмічена у групі пацієнтів з ПКС, найнижча – у групі з коморбідністю, проте вона сягала близько 64 %, що оцінюється як «добра». Підвищення експресії мембранної системи Fas/FasL на NK-клітинах може вказувати на активацію цитотоксичної функції даних клітин і відновлення протівірусного нагляду. Система PD-1/ PD-1L, також, активувалась після лікування, що забезпечує ініціацію Т-цитотоксичними лімфоцитами «раннього» апоптозу вірусінфікованих і змінених клітин. Виявлено, що у пацієнтів групи ПКС і ПТСР зміни цитотоксичної активності NK- і Т-цитотоксичних лімфоцитів були все ще нижчі за показники контрольної групи. Аналізуючи представлені результати дослідження, імуномодулюючий ефект інозин пранобексу, позитивну персистенцію герпесвірусу тощо, виникає зацікавленість в оцінці віддалених імунологічних і вірусологічних ефектів лікування.

У **четвертому розділі** сформульовані та представлені результати порівняння даних власного дослідження з результатами інших клінічних та

експериментальних досліджень. Висновки сформовані спільно з науковим керівником і повністю відповідають завданням дисертаційної роботи.

Практичні рекомендації теоретично обгрунтовані, чітко викладені, мають клінічне значення, можливості практичного застосування, широко та ефективно апробовані у теоретичній, клінічній і навчальній практиці.

Повнота викладу основних результатів дисертації в опублікованих працях.

Згідно тематики дисертаційної роботи опубліковано 18 наукових праць, серед яких 12 статей, з них 6 - у журналах включених до наукометричних баз даних Scopus/Web of science (індексація видань - *Q2, Q4*) і 6 - у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 6 тез доповідей у матеріалах конгресів і науково-практичних конференцій. Результати, також, були представлені на 16 науково-практичних конференціях і конгресах.

Дисертантка спільно з науковим керівником сформулила тему наукової роботи, мету, завдання, дизайн і план виконання дослідження. Самостійно провела інформаційно-патентний пошук, аналіз наукової літератури, відбір, опитування та аналіз даних «Анкети клінічних даних», написала розділи дисертації та сумісно з співавторами публікацій представляла результати досліджень.

Зауваження та питання до дисертаційної роботи.

У тексті дисертації виявлені поодинокі граматичні, стилістичні та пунктуаційні помилки, які не впливають на загальний зміст роботи та її сприйняття, не стосуються основних наукових положень і висновків.

Також хотілося б почути відповідь дисертантки на наступні запитання дискусійного характеру:

1. За яким механізмом вірус HHV6 реалізовує стратегію «імуного уникнення»?
2. Які властивості вірусу HHV6 сприяють розвитку соматичних хвороб?

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.

За результатами перевірки матеріалів дисертації здобувачки наукового ступеня доктора філософії Надіжко О. М. «Оцінка стану імунної відповіді за умов

постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу» оригінальність тексту становить близько 97%, академічної недоброчесності не виявлено.

Висновок про відповідність дисертації вимогам, які висуваються до наукового ступеня доктора філософії

Дисертаційна робота Надіжко О.М. «Оцінка стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу», виконана під керівництвом професорки Зубченко С.О., є завершеною кваліфікаційною самостійно виконаною на сучасному науково- методичному рівні науково-дослідницькою працею. Вона повністю відповідає вимогам, що передбачені у «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», який затверджений Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р., відносно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, та Наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій», а її автор Надіжко Олена Миколаївна заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» в галузі знань 22 «Охорона здоров'я».

Офіційний опонент:

завідувач кафедри інфекційних хвороб

Дніпровського державного медичного університету,

доктор медичних наук, професор

