

ВІДГУК

Офіційного опонента, доктора медичних наук, професора **Колоскової Олени Костянтинівни** на дисертацію асистента кафедри дитячих інфекційних хвороб Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України Клименко Христини Петрівни на тему «Корекція порушень мікробіоти ротової порожнини і місцевого імунітету у дітей з інфекційним мононуклеозом спричиненим вірусом Епштейн-Барр», подану до захисту у спеціалізовану вчену раду ДФ 35.600.029 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України, що утворена наказом МОН України від 26.10.2021 року №1136 для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 228 «Педіатрія».

1. СТУПІНЬ АКТУАЛЬНОСТІ ОБРАНОЇ ТЕМИ

Інфекційний мононуклеоз (ІМ) — поширене поліетіологічне і полісиндромальне захворювання, що спричинюється рядом патогенів і найчастіше спостерігається у підлітків та молодих людей. Вірус Епштейна-Барр (EBV) - γ-герпесвірус, який інфікує близько 90% населення світу, є основним етіологічним чинником ІМ. Збудник передається переважно з а допомогою оральних виділень, які забруднюють предмети вжитку, посуд, їжу, або транслюкується через поцілунки. На відміну від більшості гострих вірусних захворювань, інкубаційний період первинної інфекції EBV надзвичайно тривалий і сягає близько шести тижнів. Захворювання може тривати кілька тижнів і характеризується лімфоцитозом, болем у горлі, лімфаденопатією та втомою, а також лихоманкою, набряком лімфатичних вузлів і гепатоспленомегалією. Серйозну проблему при ІМ становлять ускладнення, що охоплюють гематологічні, гастроентерологічні, неврологічні, легеневі, очні, шкірні та/або серцево-судинні порушення (у т.ч. аневризму та захворювання клапанів серця). Зараження EBV може призвести до довгострокових наслідків, включаючи карциному носоглотки та лімфоми. Діагноз верифікується за

допомогою тестів на гетерофільні та/або специфічні до EBV антитіла. Епідеміологічні дослідження показують, що поширеність діагностичного титру антитіл до EBV серед дітей та підлітків коливається у межах від 20% до 80%, що підкреслює актуальність даного захворювання саме у дитячій популяції

Разом із тим, в дитячому віці залишаються невизначеними особливості перебігу випадків ІМ, викликаних цитомегаловірусом (ЦМВ), або коінфекцією EBV+CMV. Повідомлялося, що помірне підвищення лактатдегідрогенази та γ -глутамілтранспептидази (γ -GTP) дозволяє диференціювати ІМ, спричинений EBV, від CMV, однак у клінічній практиці клінічні відмінності практично відсутні.

При цьому залишається дивовижний брак знань щодо встановлення імунної відповіді на стійку інфекцію EBV, CMV та/або EBV+CMV, що значно обмежує розробку ефективних лікувально-профілактичних стратегій у дитячому віці.

З огляду на це, дисертаційну роботу Клименко Христини Петрівни на тему «Корекція порушень мікробіоти ротової порожнини і місцевого імунітету у дітей з інфекційним мононуклеозом спричиненим вірусом Епштейн-Барр» слід визнати актуальним і перспективним дослідженням, спрямованим на покращення допомоги таким хворим.

2. ОБҐРУНТОВАНІСТЬ НАУКОВИХ ПОЛОЖЕНЬ, ВИСНОВКІВ І РЕКОМЕНДАЦІЙ, СФОРМУЛЬОВАНИХ У ДИСЕРТАЦІЇ, ЇХ НОВИЗНА, ПОВНОТА ВИКЛАДУ В ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЯХ.

Дисертаційна робота Клименко Христини Петрівни базується на достатньому фактичному матеріалі спостережень, що відповідає встановленим нормам проведення клінічних досліджень за якісними та кількісними показниками. Проведене дослідження являється когортним, яке проведене в основній групі хворих на ІМ, сформованій з 280 дітей, та групи порівняння, до якої увійшли 26 пацієнтів, госпіталізованих з приводу гострого тонзиліту. Дисертантом проведений ґрунтовний патентно-інформаційний пошук та проаналізована наукова література за темою дисертації.

Комітетом з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол №3 від 14 грудня 2016 року та № 2 від 22 лютого 2021р.) встановлено, що проведені дослідження не суперечать основним міжнародним біоетичним нормам Гельсінської декларації, правовим вимогам Конвенції Ради Європи та відповідним Законам України.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою ліцензійного пакету програм програми Microsoft Excel та пакету статистичних програм Statistica for Windows v.8.0 (StatSoft, USA) із використанням параметричних і непараметричних критеріїв, що повністю підтверджує достовірність отриманих результатів. Узагальнення та аналіз результатів дослідження проведено ґрунтовно із зазначенням посилань на роботи, що проводились в даному напрямку. Висновки дисертації логічні, відповідають меті і завданням дослідження.

Наукова новизна проведеного дослідження та отриманих результатів полягає в тому, що дисертантом вперше на підставі всебічного комплексного обстеження дітей із інфекційним мононуклеозом, спричиненим EBV або EBV+CVV, вивчено склад мікробіоценозу слизових оболонок піднебінних мигдаликів та його роль у патологічному процесі. Пріоритетними є дослідження активності лактатдегідрогенази та концентрації коротколанцюгових жирних кислот у слині пацієнтів залежно від етіологічних чинників інфекційного мононуклеозу. Зокрема за моноінфекції EBV переважають аероби зі збільшенням концентрації масляної кислоти у слині, а за коінфекції – анаеробна флора зі збільшенням вмісту оцтової кислоти. Автором уперше визначено показники клініко-епідеміологічного ризику колонізації патогенною мікрофлорою слизових оболонок піднебінних мигдаликів залежно від етіології ІМ та доведена чутливість до сучасних антимікробних засобів мікроорганізмів патогенної і умовно патогенної мікрофлори, які зумовлюють дисбіоз оболонок ротової порожнини. Із використанням електронної мікроскопії дисертантом виявлено відмінності в адгезії кокової флори до епітелію мигдаликів за різної етіології гострого тонзиліту. Доведено ефективність застосування

препаратів лізоциму в комплексному лікуванні ІМ у дітей.

Матеріали дисертаційної роботи Клименко Х.П. достатньо повно висвітлені в 10 наукових публікаціях (опубліковано 10 наукових праць, із них 2 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК України для публікації результатів дисертаційних досліджень, 2 статті у закордонних виданнях, 6 тез у матеріалах і збірниках наукових конгресів і конференцій). Основний зміст, положення та висновки дисертаційного дослідження повною мірою висвітлені в друкованих працях відповідно до вимог «Порядку про проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», які встановлені Постановою Кабінету Міністрів України №167 від 6 березня 2019 року.

3. ТЕОРЕТИЧНЕ І ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Результати проведених досліджень, викладених в дисертаційній роботі, мають вагомe теоретичне та практичне значення і безперечно будуть корисними для лікарів інфекціоністів дитячих, педіатрів, сімейних лікарів, інфекціоністів. Теоретичною основою представленої роботи є те, що вона містить результати поглибленого та деталізованого вивчення клінічних, біохімічних, мікробіологічних гістологічних маркерів ІМ зі різної етіології захворювання у дитячому віці, а також визначені доступні чинники клініко-епідеміологічного ризику, які дозволяють покращити диференціальну діагностику.

Практичне значення отриманих в дисертаційній роботі результатів, стосується, в першу чергу, розширення сучасних можливостей у лікуванні дітей, хворих на ІМ, а також встановлення факторів ризику наявності певної етіології захворювання у дітей та підлітків, що покращує діагностичний пошук та визначення індивідуалізованої тактики лікування і спостереження за хворим.

4. ОЦІНКА ЗМІСТУ ДИСЕРТАЦІЇ, ЇЇ ЗАВЕРШЕНОСТІ В ЦІЛОМУ.

Дисертаційна робота Клименко Христини Петрівни структурована, грамотна, послідовно-логічна, містить аргументовані наукові положення та

висновки, що, беззаперечно свідчить про її високий науковий і практичний рівень. Дисертація викладена на 216 сторінках друкованого тексту і складається з анотації, списку власних опублікованих за темою дисертації наукових праць, переліку умовних позначень, змісту, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, узагальнення результатів проведених досліджень, висновків, практичних рекомендацій, додатків. Перелік використаних джерел містить 375 посилань, з них 39 – кирилицею, 334 – латиницею. Робота включає 39 таблиць та 7 мікрофотографій.

В «Анотації» відображено найбільш вагомими і суттєвими результатами роботи та наведено перелік публікацій здобувача за темою дисертації.

У «Вступі» обґрунтовується актуальність теми дослідження, ступінь вивченості проблеми у вітчизняній та закордонній літературі, на підставі чого дисертант чітко формулює мету та б завдань дослідження, визначає об'єкт і предмет дисертаційної роботи. Зокрема, мета полягає у підвищенні ефективності лікування інфекційного мононуклеозу у дітей на підставі встановлення клініко-лабораторних та імунологічних особливостей перебігу хвороби, порушень мікробіоценозу ротової порожнини шляхом застосування засобу місцевої антисептичної дії. Автором визначено новизну, обґрунтованість, достовірність і практичну значущість отриманих результатів.

У **першому розділі**, який присвячено огляду літератури, наведено глибокий аналіз сучасних наукових досліджень у галузі вивчення аспектів етіопатогенезу, клініки, діагностики інфекційного мононуклеозу в дитячому віці, а також змін мікробіому слизових оболонок ротоглотки як однієї з ключових ланок в процесі розвитку захворювання. Дисертант переконливо доводить, що на сучасному етапі зміни складу та співвідношення даного мікробіому сприяють недостатньому імунному захисту слизових оболонок, що призводить до активного розвитку захворювання. Таким чином, автором підкреслюється актуальність і вагомість проведеного дослідження.

У **другому розділі** автор подає детальну характеристику клінічного матеріалу і використаних методів дослідження. Так, основну групу зі 280

хворих на ІМ дітей розподілено на 2 підгрупи: 1 підгрупу сформували 234 хворих з EBV інфекцією, а до складу підгрупи 2 увійшли 46 пацієнтів з коінфекцією вірусів EBV та CMV. Хворі були госпіталізовані протягом 2016–2021 та отримували лікування у Львівській обласній інфекційній клінічній лікарні.

Автором представлено глибокий аналіз вікових особливостей, гендерних відмінностей, характеристики місць проживання та інших клінічних даних, які торкаються характеристик перебігу ІМ. У даному розділі достатньо глибоко наводяться також методи та методики отримання наукових даних, а також прийоми їх статистичної обробки. Матеріал ілюстрований 4 таблицями.

Третій розділ авторка присвятила результатам вивчення клінічних особливостей перебігу ІМ у хворих дітей, зокрема EBV інфекції у представників основної групи (підрозділ 3.1) та характеристиці мікробіоценозу мигдаликів (підрозділ 3.2). Провівши детальне вивчення особливостей перебігу Епштейн-Барр вірусної інфекції у дітей основної групи, дисертантом встановлено окремі клінічні і параклінічні відмінності у підгрупах хворих залежно від етіології ІМ.

У підрозділі 3.2. проведено детальний аналіз видового і кількісного складу мікрофлори мигдаликів і показано, що ІМ, спричинений EBV, переважає частота виділення високопатогенних мікроорганізмів порівняно до хворих із ко-інфекцією та групи порівняння. Проте показник частоти виділення малопатогенних мікроорганізмів у підгрупі 2 на 7,7% переважав над результатами, отриманими у хворих підгрупи 1. Показано, як Кількість та співвідношення летких жирних кислот у слині хворих змінюються при дисбалансі мікробіоти, що має пряму кореляцію із перебігом та клінічною картиною захворювання. Окрім того, встановлено статистично вірогідне переважання рівнів IgM-EBV і секреторного IgA у пацієнтів підгрупи 1 із наявними високопатогенними мікроорганізмами в мікрофлорі ротової порожнини порівняно до хворих із ко-інфекцією. Натомість, в останніх активність лактатдегідрогенази слини виявилася у 1,7 разу вищою.

Четвертий розділ містить результати факторного аналізу результатів обстеження для встановлення чинників ризику колонізації слизової мигдаликів ротоглотки патогенною мікрофлорою у пацієнтів із інфекційним мононуклеозом. Для підгрупи хворих із EBV-ІМ фактори описували 64,2% загальної дисперсії змінних, що вивчалися, причому перші чотири головні компоненти становили майже половину (47,6%) сумарного навантаження. Для хворих 2 підгрупи використані фактори визначали 71,5% загальної дисперсії, причому перші головні компоненти становили 52,3% сумарного факторного навантаження.

Розділ 5 автор присвятила вивченню адгезії бактерій до епітелію мигдаликів у дітей з інфекційними мононуклеозом і гострим бактерійним тонзилітом. Дисертант за результатами проведених електронно-мікроскопічних досліджень встановила відмінності у локалізації кокової флори у епітелії піднебінних мигдаликів за різної етіології гострого тонзиліту. Зокрема, позаклітинна локалізація бактерій при гострому бактерійному тонзиліті та внутрішньоепітеліальна при тонзиліті, асоційованому з ІМ. Автор робить припущення про синергізм EBV та стрептококів при ураженнях верхніх дихальних шляхів у дітей з ІМ, а також зауважує на тому, що високий ступінь адгезії бактерій до епітеліоцитів мигдаликів є підґрунтям для масивної бактерійної колонізації, що спостерігається при EBV-тонзилітах із формуванням мембранозних нашарувань.

Шостий розділ, з практичної точки зору, представляє найбільший інтерес, оскільки присвячений обґрунтуванню та аналізу ефективності розробленого дисертантом комплексного лікування ІМ із використанням препарату, який у складі має лізоциму гідрохлорид 20 мг та піридоксину гідрохлорид 10 мг тричі на добу впродовж 10 днів. Ефективність запропонованої терапії оцінювали, порівнюючи результати підгрупи з 27 хворих на EBV-ІМ, які отримували даний препарат у комплексному лікуванні, та підгрупи порівняння (19 дітей), яким призначалася стандартна терапія. Обстеження проводилося на початку лікування у клініці і на 10 добу стаціонарного лікування, коли отримані результати засвідчили позитивний вплив запропонованої терапії на перебіг ІМ у дітей. Автор отримала статистично достовірне покращення клінічних,

параклінічних, у т.ч. мікробіологічних, маркерів захворювання за відсутності побічних ефектів, індивідуальної непереносимості і алергічних реакцій.

Розділ узагальнення основних результатів даного дослідження автор здійснила їх детальний порівняльний аналіз, співставивши особисто отримані дані з даними інших авторів, які проводили дослідження в подібному напрямку, а також виклала основні положення роботи, надала їм теоретичне обґрунтування та належну оцінку. Матеріал розділу дозволяє зробити висновок, що у ході дослідження отримано ряд принципово нових даних, які дають можливість розширити уявлення про етіологію, клініко-патогенетичні особливості перебігу ІМ у дітей, що оптимізує існуючі діагностичні та лікувальні можливості.

Усі розділи власних досліджень викладені дисертантом науково грамотно, логічно і послідовно. **Висновки** повністю базуються на отриманих результатах, органічно витікають з проведеного узагальнення та аналізу результатів дослідження і повністю відповідають поставленій меті та визначеним завданням дослідження.

Список використаних джерел наукової літератури побудовано згідно сучасних вимог до бібліографії.

У **додатках** до дисертації наведені формуляр інформованої згоди пацієнта на участь у дослідженні і акти впровадження результатів дисертаційного дослідження в практичну роботу відповідних відділень.

Таким чином, вважаю, що представлена дисертація Клименко Христини Петрівни побудована за класичною схемою, зміст та структурні одиниці дисертації відповідають існуючим вимогам до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, представлені матеріали викладені і обговорені науково грамотно, послідовно і аргументовано. В цілому дисертація є завершеною науковою працею.

5. РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО ПОДАЛЬШОГО ВИКОРИСТАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ В ПРАКТИЦІ.

Результати наукового дослідження Клименко Христини Петрівни, що представлені в дисертації та наукових публікаціях, слід рекомендувати до максимально широкого використання у науковій та навчальній роботі клінічних і теоретичних кафедр вищих медичних навчальних закладів України, а також у практичній діяльності закладів охорони здоров'я дітей різного рівня надання меддопомоги: від первинної ланки до спеціалізованих інфекційних відділень стаціонарів.

6. ЗАУВАЖЕННЯ ЩОДО ОФОРМЛЕННЯ ТА ЗМІСТУ ДИСЕРТАЦІЇ, ЗАПИТАННЯ ДО ЗДОБУВАЧА.

При рецензуванні змісту дисертації помічено граматичні та орфографічні помилки, описки, невдалі обороти, які носять поодинокий характер. Принципових зауважень до роботи немає.

Після ознайомлення з роботою виникли декілька запитань до дисертанта:

1. Клінічні та лабораторні дані при інфекційному мононуклеозі та хронічно активній Епштейн-Барр вірусній інфекції досить подібні, і іноді їх важко відрізнити. Чи траплялися серед когорти такі хворі, і як Ви їх вирізняли?
2. Більшість випадків ІМ характеризуються спонтанним одужанням. Чим пояснюєте необхідність введення до комплексного лікування додаткового препарату?
3. Які Ваші рекомендації щодо антибактеріальної терапії при ІМ? Чи впливає спектр досліджених Вами збудників ІМ на рішення про призначення антибіотиків та вибір середників?

7. ВІДСУТНІСТЬ (НАЯВНІСТЬ) ПОРУШЕНЬ АКАДЕМІЧНОЇ ДОБРОЧЕСНОСТІ.

Рукопис дисертаційної роботи Клименко Христини Петрівни перевірено на плагіат програмним засобом «Антиплагіатна Інтернет – система Unichesk». Рівень оригінальності становить більше 85 %. За перевіркою посилань комп'ютерною програмою визначено, що наявні окремі співпадіння з власними публікаціями, термінологією, посиланнями на літературу та загальноновживаними фразами.

Під час вивчення матеріалів дисертації, аналізу наукових публікацій дисертанта не було виявлено ознак порушення академічної доброчесності, а саме академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації та фальсифікації результатів дослідження. Робота визначається самостійною оригінальною працею та не містить порушень академічної доброчесності.

8. ВИСНОВОК ПРО ВІДПОВІДНІСТЬ ДИСЕРТАЦІЇ ВСТАНОВЛЕНИМ ВИМОГАМ.

На підставі проведеного аналізу дисертаційної роботи Клименко Христини Петрівни на тему: «Корекція порушень мікробіоти ротової порожнини і місцевого імунітету у дітей з інфекційним мононуклеозом спричиненим вірусом Епштейн-Барр», що представлена на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 228 «Педіатрія» вважаю, що робота є сучасною і актуальною, яка містить нові науково обгрунтовані результати проведених особисто здобувачем досліджень та є завершеною науковою працею, що вирішує актуальні науково-практичної задачі по встановленню клініко-патогенетичних особливостей перебігу інфекційного мононуклеозу за різної етіології захворювання, та покращенні результатів його лікування.

За основними змістовними ознаками, актуальністю, науковою новизною та обгрунтованістю основних положень, висновків і рекомендацій, теоретичним і практичним значенням, дисертаційна робота Клименко Христини Петрівни повністю відповідає вимогам до оформлення дисертації, затвердженим наказом МОН України від 12.01.2017 №40 та п. 10,11 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 6 березня 2019 року, а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 228 «Педіатрія».

Завідувач кафедри педіатрії та дитячих
інфекційних хвороб Буковинського державного
медичного університету, доктор медичних наук,

професор

Підпис

Колоскова

зас

Начальник відділу кадрів

Буковинського державного медичного університету



Колоскова
Колоскова О.К.

Dr. Stepanov