

## ВІДГУК

**офіційного рецензента Рахман Людмили Володимирівни,**  
доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри психіатрії та дитячої психіатрії, психотерапії та клінічної психології ФПДО ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»  
на дисертаційну роботу **Надіжко Олени Миколаївни** 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 теми.** Напрямок наукових досліджень, обраний автором, є, без сумніву актуальним. У першу чергу умови сьогодення характеризуються зростанням випадків гострого стресу та його хронізації, особливо за умов повномасштабної війни в Україні. Необхідно зауважити, що війна в Україні почалась у час пандемії COVID-19, яка застала світову медичну спільноту зненацька і була справжнім та неочікуваним викликом для медицини в цілому з великою кількістю летальних випадків. Відтак один стрес для українського населення переходив в інший, а COVID-19 приблизно у 30% населення трансформувалася у ще не до кінця вивчений стан постковідного синдрому.

Досі без відповіді залишається низка питань стосовно причин формування цього синдрому – чи це надто тривала персистенція вірусу SARS-CoV-2, чи дизрегуляція імунної відповіді, скерована у бік аутоімунізації, чи пригнічення противірусних імунних механізмів. Не з'ясовано, чи впливає

перебіг перенесеного пацієнтом COVID-19 (легкий, середній і тяжкий) на частоту формування постковідного синдрому та розвиток імунопатології.

Уцілому стрес погіршує здоров'я населення. Відомо, що він виступає як епігенетичний чинник впливу на дизрегуляцію імунної системи людини, а імунні зміни впливають на нейромедіаторні системи та ділянки мозку, що сприяють формуванню посттравматичного стресового розладу (ПТСР). Взаємозв'язок імунної системи з ПТСР демонструють доказові дані про підвищену концентрацію маркерів запалення при ПТСР, включаючи С-реактивний білок, інтерлейкін-6 і фактор некрозу пухлини- $\alpha$ . Крім того, ПТСР часто супроводжується імунними станами, такими як кардіометаболічні та аутоімунні розлади. Враховуючи зв'язок між ПТСР та імунною системою, актуальним є проведення досліджень для оцінки ефективності протизапальної терапії у людей з ПТСР. Розуміння складних взаємодій між ПТСР та змінами в імунній системі при цьому є важливими для майбутнього відкриття діагностичних і терапевтичних інструментів.

Ще однією проблемою сьогодення стало те, що після перенесеного COVID-19 при постковідному синдромі та під впливом стресових чинників при ПТСР ослаблюється противірусний імунний захист, внаслідок чого відбувається реактивація імунотропних вірусів, зокрема - HHV6. Існують припущення, що власне герпесвіруси, зокрема HHV6, визначали тяжкість перебігу COVID-19 і можуть виступати потенційними тригерами формування постковідного синдрому. У зв'язку з цим у пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР тривають пошуки контрольних точок впливу HHV6 на дизрегуляцію імунної відповіді при цих станах. Ці відкриття дозволять запропонувати комплексне таргетне лікування пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР, яке забезпечувало б імунокоригуючий вплив і сприяло процесу виздоровлення. Саме цим проблемним аспектам і присвячена дисертаційна робота Надіжко О.М.

Аспірантом Надіжко О.М. здобуто необхідні теоретичні знання, уміння, навички та інші компетентності, достатні для продукування нових ідей,

розв'язання комплексних проблем у галузі професійної медичної діяльності та дослідницько-інноваційної діяльності, дисертант оволоділа методологією наукової та педагогічної діяльності, а також виконала власне наукове дослідження, результати якого мають наукову новизну, теоретичне та практичне значення.

**Наукова новизна досліджень та одержаних результатів.** Результати представленої Надіжко О.М. дисертаційної роботи містять багато елементів наукової новизни. Автором уперше розроблено анкету, яка містила анамнестичні, клінічні, загально-лабораторні, молекулярно-генетичні та імунологічні дані пацієнтів, що дозволило адекватно розділити їх на групи для виконання прицільних завдань дослідження. Дисертанткою також 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.

Уперше 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. 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. Таким пацієнтам необхідно визначати кількості лімфоцитів CD3+, CD56+, CD8+ і CD4+25+127-, а також експресію на мембранах CD56+ і CD8+ активаційно-регуляторного маркера CD38 та інгібіторного рецептора TIM3.

Уперше в Україні для визначення цих показників використали проточну цитометрію.

**Практичне значення представленої роботи.** Виконана дисертаційна робота має велике практичне значення. Доповнено клінічні, загальнолабораторні та імунологічні характеристики проявів постковідного синдрому після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 в анамнезі та ПТСР. У пацієнтів з ПТСР обгрунтовано необхідність проведення диференційної діагностики з іншими імунозалежними та імунонезалежними неврологічними хворобами.

Розроблено та запропоновано лікування інозинпранобексом (1000 мг) протягом трьох місяців і встановлено, що ефективність лікування інозинпранобексом в групі пацієнтів з ПТСР була найбільшою - 80,7%, а в групі пацієнтів з коморбідною патологією постковідний синдром з ПТСР - 45,3%. Показано, що пацієнти з коморбідною патологією потребують більш тривалого етіотропного (противірусного) та патогенетичного (імуномодулюючого) лікування. Запропоновано критерії оцінки ефективності терапії за зміною кількості лімфоцитів CD3+, CD56+, CD8+ та CD4+25+127- та експресії активаційного маркера CD38 та інгібіторного рецептора TIM3 на мембранах лімфоцитів.

Уперше доведена значуща роль реактивації HHV6 у зниженні активності імунної відповіді у пацієнтів з постковідним синдромом (незалежно від тяжкості перебігу COVID-19 в анамнезі) і ПТСР, зниженні апоптичної активності імунокомпетентних клітин, розбалансовуванні активізаційно-регуляторних механізмів, що стало основою для створення і запровадження графічно-логістичних моделей прогнозу формування імунопатологічних синдромів.

**Ступінь обгрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Дисертаційна робота виконана на сучасному науково-методичному рівні і ґрунтується на достатньому клінічному матеріалі, на науковому аналізі

результатів анамнестичних, клінічних, загальних лабораторних, біохімічних, імунологічних і молекулярно-генетичних досліджень. Коректна статистична обробка автором цифрового матеріалу дала можливість дійти до формулювання обґрунтованих і достовірних положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота оформлена згідно існуючих вимог та положень. Розділи закінчуються висновками та посиланнями на власні джерела, в яких опубліковані результати роботи. Методи досліджень є сучасними, інформативними та адекватними до поставлених завдань. Назва дисертації цілком відповідає її змісту. Головні наукові положення, висновки і практичні рекомендації, сформульовані у дисертації, достатньо обґрунтовані, ґрунтуються на фактичних даних, є логічним підсумком отриманих результатів дослідження.

### **Оцінка структури, змісту та форми дисертації.**

Дисертаційна робота повністю відповідає актуальним вимогам до структури та змісту. Робота логічно побудована і містить анотацію, вступ, розділи: огляду літератури, матеріалів і методів, результатів власних досліджень, який для кращого сприймання розділений на підрозділи, узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації та додатки. Використаний список літератури (230 джерел) є вичерпним і включає переважно сучасні публікації, що підкреслює актуальність дослідження. Назва роботи достовірно відображає її зміст.

У розділі 1 «Стан імунної системи пацієнтів з постковідним синдромом та посттравматичним стресовим розладом без/з ре активацією ННV6 (огляд літератури)» глибоко висвітлені сучасні погляди на розвиток різних імунних порушень під дією ре активації ННV6. Автором опрацьовані та описані сучасні терапевтичні засоби, які використовуються у світовій практиці при лікуванні пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР, включаючи біологічні препарати з аналізом їх ефективності. На мою думку, цікаво було б ще додатково розглянути питання залежності формування постковідного синдрому від проведеної вакцинації від SARS-CoV-2, особливо нових РНК-вакцин для

екстренного використання – ця інформація є важливою як у теоретичному, так і в практичному сенсі.

У розділі 2 «Матеріали і методи» відображений дизайн дослідження, який складався з чотирьох структурованих етапів, перші два етапи були паралельними і полягали у відборі пацієнтів і формуванні груп дослідження. Дисертанткою розроблена і затверджена авторська «Анкета клінічних даних», добре сформульовані критерії включення і виключення. У розділі розміщена схема лікування пацієнтів і способи оцінки ефективності лікування, безпеки та переносимості лікарського засобу інозин пранобекс. Дослідження О.М. Надіжко було схвалено Комісією з питань етики і затверджено на засіданні комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» (протокол №1 від 23.01.2023).

Розділ 3 «Результати власних досліджень» містить дані клінічних, лабораторних та імунологічних змін у пацієнтів з постковідним синдромом залежно від перебігу COVID-19 і посттравматичним стресовим розладом без/з реактивацією вірусу HHV6. За отриманими результатами найвагоміших змін зазнала кількість імунних клітин у пацієнтів після тяжкого COVID-19 з реактивацією HHV6. Це був важливий і потрібний фрагмент дослідження, який в огляді сучасної літератури мав багато контрверсійних питань. Наступним фрагментом досліджень дисертантки було вивчення функцій NK клітин у пацієнтів з постковідним синдромом та пацієнтів з ПТСР. Надіжко О.М. була пророблена велика робота по визначенню експресії CD56+95+ (Fas), CD56+178+ (FasL), активаційно-регуляторного маркера CD56+38+ та інгібіторної «контрольної точки» CD56+366+ (TIM-3) у пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР без/з реактивацією HHV6 та інтерпретацію результатів. Продемонстровано, що за умов реактивації HHV6 відбувається дисбаланс між нормальними противірусними функціями NK клітин і їх реальною реалізацією при цій вірусній інфекції, внаслідок чого зростає ризик пошкодження клітин нервової системи і формування імунопатології, з великою

ймовірністю автоімунної. Далі у цьому розділі вказані результати лікування інозинпранобексом відповідних пацієнтів з ре активацією HHV6 з детальним аналізом клінічної, противірусної та імунологічної ефективності. Для проведення лікування окремо включена група пацієнтів з коморбідною патологією (постковідний синдром з ПТСР). Найкращі результати лікування були в групі пацієнтів з ПТСР, найгірші - у групі з коморбідною патологією постковідний синдром з ПТСР на тлі реплікативної активності HHV6 – 52,4%. У групі пацієнтів з ПТСР також була найвищою вірусологічна ефективність лікування - 80,7%, а в групі пацієнтів з коморбідною патологією постковідний синдром + ПТСР вона була найменшою - 45,3%. Чому результати лікування пацієнтів з коморбідною патологією постковідний синдром+ПТСР виявилися найслабшими - це питання, яке потрібно досліджувати далі. Також лікування інозин пранобексом покращило експресію Fas CD56+95+ і FasL CD56+178+ у пацієнтів з постковідним синдромом, що вказує на активацію цитотоксичних клітин пацієнтів щодо доведення до апоптозу вірусінфікованих клітини під впливом лікування. Дуже цікавим і сучасним був напрямок досліджень експресії рецептора PD-1 (CD8+CD279+) на Т цитотоксичних клітинах CD8. Окремо також хотілося би відзначити зміни кількості Т лімфоцитів регуляторних CD4+CD25+CD127- під впливом лікування. Отримані зміни у експресії регуляторного маркера на Т клітинах свідчать про поступове відновлення регуляції імунної відповіді для запобігання формування тяжких поствірусних ускладнень. Такі ж дослідження були проведені у пацієнтів з ПТСР та пацієнтів з коморбідною патологією постковідний синдром+ПТСР. У результаті 3-х місячного курсу лікування інозинпранобексом пацієнтів з ПТСР на тлі ре активації герпесвірусу HHV6 дисертантом визначено посилення цитотоксичності НК клітин та Т лімфоцитів цитотоксичних CD8+ насамперед через взаємодію рецептор-ліганд Fas/FasL. Загалом Надіжко О.М. виконала глибокий імунологічний аналіз ефективності тривалого лікування інозинпранобексом відповідних пацієнтів на тлі реактивації HHV6. У ході детального ознайомлення з роботою, виникла думка, стосовно більш

детального опрацювання кореляції постковідного синдрому із важкістю перебігу COVID-19 та вивчення ефективності лікування при цьому. І це, загалом характеризує прогресивність та перспективність даного дослідження, тож, думаю, що у подальших планах дисертантки буде можливість продовжити ці дослідження і створити три групи пацієнтів з постковідним синдромом (після легкого, середнього і тяжкого перебігу COVID-19) та лікувати їх інозинпранобексом, контролюючи ефект лікування за експресією тих самих рецепторів і лігандів, в інтерпретації яких дисертантка уже набула позитивного досвіду.

У **розділі 4** «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» опрацьовано та коректно написано порівняння результатів власного дослідження з даними зарубіжної літератури. Висновки повністю відповідають завданням дисертаційної роботи.

Отримані дані є **результатом самостійної роботи дисертантки**. Надійко О.М. самостійно здійснила глибокий аналіз сучасної наукової літератури, провела патентно-інформаційний пошук і сформувала власну дослідницьку концепцію. Усі етапи дослідження – від збору первинного матеріалу (розробка анкети і проведення опитування), проведення клінічних спостережень, статистична обробка клініко-лабораторних даних виконані дисертанткою особисто. Разом з науковим керівником сформовані висновки і практичні рекомендації. Автором особисто написано всі розділи дисертації. Дисертантка також забезпечила написання та публікацію наукових праць, представлення результатів дослідження на науково-практичних конференціях, а також сприяла їх впровадженню в освітній процес і медичну практику в Україні. У співавторських роботах здобувач відповідала за формування дослідницької ідеї, організацію збору, формування та аналіз бази даних, їх інтерпретації і підготовки до друку. Загалом за темою дисертації опубліковано 18 наукових публікацій: шість – у спеціалізованих фахових виданнях, шість – у виданнях, що входять до наукометричних баз Scopus/Web of Science (індексація видань -

Q2, Q4). Оpubліковані шість тез в матеріалах міжнародних науково-практичних конференцій.

**Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.** У рецензованій дисертаційній роботі не встановлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертанткою представленого наукового дослідження. Текст є оригінальним, всі цитати коректно позначені, посилання відповідно вказані в списку використаних джерел.

**Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача.** Необхідно відмітити, що принципових і серйозних недоліків стосовно змісту та оформлення дисертаційної роботи не виявлено. Зауваження, які виникли при аналізі дисертації не торкаються суті чи методології роботи і мають переважно рекомендаційний характер. Серед незначних зауважень можна виділити стиль викладання матеріалу у третьому розділі дисертації, а також підписи деяких таблиць і рисунків, що в цілому не впливає на теоретичне та практичне значення результатів дослідження і не знижує значущості роботи.

Запитання, які виникли після рецензування дисертаційної роботи для дискусії:

1. Які основні фактори ризику розвитку постковідного синдрому?
2. Яким чином проводився набір пацієнтів з ПТСР для Вашого дослідження?
3. Чому, на Вашу думку, в групі пацієнтів із ПТСР спостерігалися найкращі результати лікування?

Отже, дисертаційна робота Надіжко О.М., подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», присвячена актуальній проблемі сучасної медицини, є закінченим науковим дослідженням, містить нові положення і нові науково обґрунтовані результати, що, в цілому, розв'язують важливе науково-практичне завдання щодо детального вивчення особливостей імунної відповіді

за умов постковідного синдрому, посттравматичного стресового розладу та їх коморбідності на тлі ННВ6-інфекції, розробці терапевтичної тактики ведення таких пацієнтів і прогнозуванні ризику формування імунопатологічних синдромів.

У підсумку, виходячи з актуальності, об'єму та рівня досліджень, наукової новизни результатів, теоретичної та практичної цінності отриманих даних, об'єктивності та обґрунтованості висновків, беручи до уваги особистий внесок здобувача, дисертаційна робота Надіжко Олени Миколаївни «Оцінка стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу» повністю відповідає вимогам пп. 6, 7, 8 Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 № 44, та наказу МОН України від 12.01.2017 № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» і може бути представлена до офіційного захисту, а її автор Надіжко Олена Миколаївна повністю заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю за спеціальністю 222 «Медицина».

**Офіційний рецензент:**

д.мед.н., професор, завідувач кафедри психіатрії та дитячої психіатрії, психотерапії та клінічної психології факультету післядипломної освіти

ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»



Людмила РАХМАН

*Людмила Рахман*  
*Завідувачка*  
*Людмила Рахман*