

ВІДГУК

офіційного опонента – доктора медичних наук, професора Колоскової Олени Костянтинівни на дисертаційну роботу Федчишена Олександра Петровича на тему «Патогенетичне значення антимікробних пептидів та недостатності вітаміну Д для діагностики та лікування бронхіальної астми у дітей», подану на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.10 «Педіатрія» (222 – Медицина).

Актуальність теми дослідження. Всупереч результатам масштабних клінічних досліджень, які наразі свідчать, що у більшості пацієнтів бронхіальна астма може добре контролюватися, практика виявляє те, що неконтрольоване перебіг захворювання доволі часто трапляється в дитячому віці, а тривале утримання повного контролю залишається недосяжною метою для більшості пацієнтів (Liu A. H. et al., 2010). Наразі бронхіальну астму розглядають як хронічне запальне захворювання дихальних шляхів, яке вирізняється спільними ознаками порушення бронхіальної прохідності та, водночас, фенотиповою неоднорідністю, на яку впливають численні генетичні та епігенетичні чинники. У цьому відношенні прискіпливу увагу дослідників останніми роками привертає група гормоноподібних речовин, об'єднана спільною назвою «вітамін Д», що володіє значним ресурсом фізіологічних ефектів та справляє ефект на усі види обміну речовин, а також перебіг різноманітної соматичної патології. Зокрема, наукові джерела містять нову інформацію щодо взаємозв'язків сироваткового рівня вітаміну Д у вагітних жінок із дебютом і перебігом у ранньому дитинстві рекурентного візінг-синдрому (Camargo C.A. et al., 2007; Devereux G. Et al., 2007), а також його асоціації із тяжкістю перебігу бронхіальної астми (Brehm J.M. et al., 2010) та діапазоном доз контролюючих інгаляційних глюкокортикостероїдів (Searing D.A. et al., 2010).

У рамках фенотипової неоднорідності бронхіальної астми та невизначеності ролі інфекційних чинників у її розвитку (зокрема, перегляду так званої «гігієнічної гіпотези») актуальності набувають дослідження, присвячені антимікробному захисту при atopічних захворюваннях у цілому, та, зокрема, щодо ролі антимікробних пептидів, які можна розглядати як ендогенні антибіотики, оскільки вони переважно зберігаються у вакуолях гранулоцитів, готових до активації внаслідок антигенної стимуляції. Антимікробні пептиди, зокрема кателіцидин LL-37, є активними ефекторними молекулами, що беруть участь у захисті слизових оболонок, та є невід'ємною частиною негайних реакцій, що відбуваються в епітеліоцитах бар'єрних органів. Проте, на відміну від патології шлунково-кишкового тракту, значення кателіцидинів у розвитку та персистуванні бронхіальної астми у дитячому віці не вивчалось.

Виходячи з цього, актуальність і, головне, перспективність дисертаційного дослідження Федчишена О.П. слід визнати безумовними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана на кафедрі педіатрії №2 Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова та є фрагментом науково-дослідної роботи «Покращення якості медичної допомоги дітям з мультифакторними хворобами на основі поглибленого вивчення клініко-діагностичних особливостей їх перебігу» (№ державної реєстрації 0114U001493).

Наукова новизна роботи. Автором в проведеному дослідженні вперше з використанням клінічних, інструментальних, біохімічних та імуноферментних методів встановлене патогенетичне значення змін у сироватковій концентрації вітаміну Д та антимікробного пептиду (кателіцидину) у формуванні тяжкості, досягненні контролю та для інших клінічно-інструментальних характеристик персистування бронхіальної астми у дітей. Так, показано вперше, що дефіцит 25(OH)D₃ (менше 10 нг/мл) достовірно асоціює з atopічною формою БА (відношення шансів =2,0), а неatopічний варіант захворювання супроводжується субоптимальним (20 –

30 нг/мл) вмістом 25(OH)D₃ (відношення шансів=1,7). Уперше продемонстровано, що залежно від форми захворювання змінюється концентрація вітаміну Д і антимікробних пептидів, зокрема при неатопічній або змішаній астмі відбувається підвищення вмісту кателіцидину LL-37 та зниження 25(OH)D₃ у порівнянні з атопічною формою захворювання та здоровими пацієнтами. Автором показано, що персистуюча тяжка астма асоціює зі зростанням вмісту кателіцидину LL-37 на 39,58 % та 10,87 %, порівняно із інтермітуючим або легким персистуванням хвороби відповідно, а дефіцит вітаміну Д підвищує ризик тяжкого персистування хвороби (відношення шансів =1,2). Окрім того підвищення вмісту кателіцидину асоціювали із наростанням тяжкості загострень бронхіальної астми (відношення шансів =2,2).

У роботі вперше проведено клініко-патогенетичну паралель між змінами імунного статусу, функцією зовнішнього дихання та особливостями сироваткового вмісту антимікробних пептидів (кателіцидину) та 25-гідроксіхолекальциферола (25-OH-D₃), що розширює сучасні уявлення стосовно передумов, спільних та відмінних патогенетичних ланок при бронхіальній астмі в дитячому віці. Так показано, що по мірі збільшення вмісту кателіцидину LL-37 у сироватці крові зростає ризик тяжкого персистування бронхіальної астми (відношення шансів =2,3), зокрема у пацієнтів із недостатністю 25(OH)D₃, в яких це зростання концентрації кателіцидину LL-37 досягає 69,15 %.

Пріоритетними слід визнати отримані автором результати вивчення взаємозв'язків рівня антимікробних пептидів (кателіцидину) та 25-гідроксіхолекальциферолу (25-OH-D₃) із біохімічними маркерами активності запального процесу, що значно доповнює запальну теорію формування бронхіальної астми. Зокрема, вперше показаний середньої сили статистично значимий зворотній взаємозв'язок (на рівні $r = -0,4-0,6$) вмісту прозапальних інтерлейкінів-1,-6 та концентрацією 25(OH)D₃ в сироватці крові.

Практичне значення роботи

Вагомим і перспективним досягненням автора є розробка персоніфікованого підходу до лікувально-профілактичних заходів при астмі у дітей з урахуванням патогенетичної ролі антимікробних пептидів та вітаміну Д. Так, у менеджменті atopічної форми астми перевагу слід надавати монотерапії ІГКС або їх комбінації з LABA, оскільки це асоціює зі зростанням концентрації вітаміну Д (відношення шансів =2,3 та 4,0 відповідно) та зниженні вмісту вивчених антимікробних пептидів (відношення шансів=2,0 та 2,6 відповідно). За неатопічної форми ефективнішим є використання комбінованої терапії ІГКС+LABA (відношення шансів в обох випадках =3,2).

Розроблено та впроваджено в практику спосіб діагностики бронхіальної астми у дітей шляхом визначення вмісту протимікробних пептидів, який дозволяє дискретно підходити до формування лікувальної тактики (патент на корисну модель u 2016 12839 від 16.12.2016).

Безсумнівна практична значущість дисертаційного дослідження полягає також в обґрунтуванні необхідності саплементації харчового раціону хворих на бронхіальну астму дітей вітаміном Д, оскільки за дефіциту 25(OH)D₃ контрольованість захворювання досягається лише у 12,32 % пацієнтів із atopічною та у 3,24 % хворих на неатопічну форму патології. Причому з практичної точки зору, особливо необхідною є корекція дефіциту 25(OH)D₃ за atopічної форми астми, за якої ризик такого дефіциту у хворих є вірогідно вищим (відношення шансів =2,0).

Результати досліджень впроваджені у практику роботи Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні, обласних лікарень Чернівецької, Харківської, Київської та Одеської областей.

Наукові розробки та результати дисертації використовуються в навчальному процесі кафедр педіатрії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації та їх достовірність.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, представлених у дисертації Федчишена О.П., забезпечена:

- використанням сучасних методів клінічно-параклінічного дослідження, що є адекватними до поставлених завдань;
- використанням системного послідовного, у т.ч. ретроспективного, підходу до обстеження і лікування пацієнтів;
- вірогідністю отриманих кількісних даних, які математично опрацьовані із застосуванням сучасних адекватних методик статистичного аналізу, у т.ч. прийомів клініко-епідеміологічного аналізу, та вірно інтерпретовані як з методичної, так і наукової точки зору.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.

Наукові результати, отримані у ході дисертаційного дослідження особисто автором, широко представлені у 10 наукових роботах, з яких: 5 статей, зокрема, 3 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК при МОН України, та 2 статті – у періодичних наукових виданнях за кордоном; 4 наукові праці у матеріалах науково-практичних конференцій. Отримано 1 патент на корисну модель.

Автореферат за змістом повністю відповідає дисертації, зауважень до змісту та оформлення автореферату немає.

Послідовність викладу результатів дослідження і оцінка змісту дисертації.

Дисертаційна робота написана українською мовою, викладена на 154 сторінках друкованого тексту, складається із вступу, огляду літератури, розділу "Матеріали та методи дослідження", трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який охоплює 42

роботи, видані кирилицею, та 80 - латиницею. Дисертація ілюстрована 77 таблицями і 5 рисунками.

У вступі на 6 сторінках чітко викладено актуальність проблеми, сформульовані мета та завдання дослідження, визначені об'єкт та предмет дослідження, описана новизна отриманих результатів дослідження та їх науково-практичне значення. Всі підрозділи вступу викладені згідно існуючих вимог. На мій погляд, назва розділу 3 та підрозділу 3.1. дещо дублюються, варто було подати їх у різній редакції.

Розділ 1 (огляд літератури) викладений на 18 аркушах і присвячений сучасним аспектам патогенезу, клініки, діагностики та лікування бронхіальної астми у дітей. У ньому проаналізовано причини неконтрольованого перебігу захворювання та шляхи корекції, роль вітаміну Д (підрозділ 1.1) та антимікробних пептидів (підрозділ 1.2) у формуванні, перебігу і досягненні контролю над хворобою, сучасні механізми розвитку запалення, імунологічних та метаболічних порушень. Аналітичний стиль викладення огляду літератури свідчить про достатню компетенцію автора, широту знань, а також виступає теоретичним обґрунтуванням доцільності проведення представленого наукового дослідження. Розділ завершується підсумовуючим резюме, в якому обґрунтовуються напрямки вирішення тих завдань у даній галузі, які залишаються остаточно нез'ясованими. Огляд літератури легко читається і містить сучасні дані щодо вказаної проблеми. До побажань по даному розділу слід віднести рекомендацію у подальших роботах уникати використання скорочень у назвах розділів та підрозділів.

У розділі 2 відображені дизайн, матеріал (200 хворих на бронхіальну астму та 40 здорових дітей віком від 6 до 17 років), критерії входження і невходження у дослідження, а також методи дослідження (загально клінічні, функціональні, імунологічні, у т.ч. імуноферментний аналіз, алергологічні, статистичні). У розділі наведені групи порівняння (їх 3 - відповідно до форми астми: алергічна IgE-залежна 29,5 % та IgE-незалежна - 21,5 %, та змішана - 38,5 %), а також основні етапи і структура роботи, що свідчить про

виважений методологічний підхід до проведення дослідження. Автором проведено ретельне вивчення особливостей перебігу окремих фенотипів астми у створених групах порівняння, а також намічено план обстеження пацієнтів, що передбачав загальноклінічне обстеження; оцінку функціонального стану дихальної системи; алергологічне обстеження (збір алергоанамнезу, постановка шкірних прік-тестів, визначення вмісту в крові загального Ig E); дослідження імунологічного статусу (визначення вмісту у сироватці крові концентрації С-реактивного протеїну, прозапальних цитокінів - інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-6) при поступленні до стаціонару, на 2 та 4 тижнях спостереження. У крові хворих визначали вміст 25-ОН-вітаміну D₃ та антимікробного пептиду LL-37 у динаміці спостереження. Розділ завершується підсумковим резюме, він викладений чітко і послідовно, зауважень немає, проте доволі дискусійним виглядає визначення автором патогенетичних варіантів (або форм) астми: алергічний (атопічний і неатопічний) і змішаний, - як «етіологія» астми (табл. 2.9,2.10,2.12 і т.д.).

Розділ 3 присвячено вивченню клінічного значення виявлених автором змін у концентраціях антимікробних пептидів та 25-гідроксіхолекальциферолу з урахуванням періоду, ступеня тяжкості, рівню контролю захворювання та біохімічних маркерів активності запального процесу. Даний розділ містить, з наукової точки зору, нову і цінну інформацію стосовно патогенетичної ролі досліджуваних сурогатних маркерів у підтриманні і персистуванні запального процесу бронхів при астмі у дітей. Автор ретельно і послідовно аналізує анамнестичні, клінічні дані, результати параклінічних досліджень, які за використання статистичних прийомів дозволяють довести значимість вмісту 25-ОН-вітаміну D₃ та антимікробного пептиду LL-37 як факторів ризику тяжкого і неконтрольованого перебігу захворювання і, зокрема, окремих його форм. Наведено дані щодо оцінки контрольованості перебігу БА у досліджуваних дітей. Цікавим є встановлений факт, що у дебюті астми у хворих, які ще не отримували тривалої базисної терапії, виразність недостатності вітаміну D₃

аналогічна хворим із частково-контрольованим та неконтрольованим перебігом патології, а у дітей із контрольованою астмою не виявлено достовірних розбіжностей із групою здорових дітей. Всупереч цьому, по мірі втрати контролю зростає вміст кателіцидину у сироватці хворих. Показано також, що вміст 25(OH)D₃ при атопічному перебігу захворювання є достовірно вищим, ніж при неатопічному та змішаному варіантах, проте у загальній когорті він істотно нижчий відносно здорових дітей, а найнижчий показник 25(OH)D₃ спостерігається за неатопічної форми астми.

Розділ написаний чітко, лаконічно, послідовно, викладений на 15 сторінках, гарно ілюстрований 16 таблицями, завершується стислим резюме і переліком надрукованих робіт, де висвітлюються його матеріали.

Розділ 4 викладений на 25 сторінках, ілюстрований 24 таблицями, завершується стислим резюме та переліком опублікованих за темою розділу робіт. Назва розділу «Залежність функції зовнішнього дихання та стану імунної системи при БА у дітей від вмісту антимікробних пептидів та 25-гідроксіхолекальциферола», на мій погляд, повинна була би бути відредагована на кшталт «Особливості функції зовнішнього дихання і показників імунного статусу у хворих за різної концентрації антимікробних пептидів та 25-гідроксіхолекальциферолу у сироватці крові», оскільки останній варіант об'єктивніше і коректніше відповідає змісту даного розділу. У даному розділі автор аналізує особливості показників спірометричного обстеження, окремих маркерів імунологічного статусу організму дітей за різної форми, характеристик перебігу і тяжкості патології з урахуванням концентрації у крові пацієнтів 25-ОН-вітаміну D₃ та антимікробного пептиду LL-37. Як з наукової, так і практичної точки зору, цікавими представляються пріоритетні дані стосовно зниження у 1,25 разу показника ОФВ₁ на тлі недостатності та дефіциту 25(OH)D₃, а також збільшення у 1,55 разу концентрації кателіцидину LL-37 при тяжкому бронхообструктивному синдромі. Показані односпрямовані зміни концентрації загальних імуноглобулінів А, М, G із сироватковим вмістом 25(OH)D₃, та кателіцидину

LL-37. З патогенетичної точки зору, вагомими є отримані автором результати щодо статистично значимих взаємозв'язків вмісту протимікробного пептиду кателіцидину LL-37 із рівнем сироваткового IgA ($r = -0,6$), фагоцитарним ($r = 0,5$) та імунорегуляторним індексом ($r = 0,7$).

Розділ 5 присвячений індивідуалізованому підходу до лікування дітей, хворих на бронхіальну астму, з урахуванням встановленої патогенетичної ролі антимікробних пептидів та вітаміну Д. Показано що застосування ІГКС у якості базисної протизапальної терапії достовірно частіше асоціювало із атопічною формою астми, а використання комбінованої терапії СМАРТ - із неатопічною формою. Ретроспективне обстеження через 3 місяці базисної терапії дозволило встановити достовірне зниження вмісту 25(OH)D₃ у пацієнтів, які отримували ІГКС та ІГКС+LABA, та зниження концентрації кателіцидину LL-37 на тлі трьох лікувальних тактик (монотерапія ІГКС, СМАРТ та інгібітори лейкотрієнів).

Розділ добре ілюстрований 17 таблицями та 4 рисунками, викладений чітко і грамотно на 19 сторінках. Завершується розділ традиційно стислим резюме і переліком надрукованих автором праць. Результати даного розділу мають найбільше прикладне значення.

У **аналізі та обговоренні результатів дослідження** дисертант підсумовує отримані результати, вказує на клінічне значення вивчених сурогатних показників, їх зв'язок із результатами інших досліджень. Розділ написаний добре у дискусійному стилі, автор аналізує отримані результати в порівнянні з даними інших досліджень, показує їх наукове, практичне і медико-соціальне значення.

Висновки дисертаційної роботи (їх 5) впливають зі змісту роботу і узагальнюють теоретичну і практичну новизну проведеного дослідження. Вони є обґрунтованими, проте дещо перевантажені текстовим і цифровим матеріалом.

У **2 практичних рекомендаціях** вказано на доцільність одослідження вмісту кателіцидину LL-37 та вмісту вітаміну Д для оцінки та корекції

базисного лікування бронхіальної астми, даються конкретні настанови щодо використання запатентованого способу діагностики бронхіальної астми у дітей шляхом визначення вмісту протимікробних пептидів.

Список використаних літературних джерел оформлений у відповідності до сучасних вимог, містить літературні джерела переважно останніх років.

Суттєвих зауважень до дисертації немає. Вказані вище окремі побажання мають здебільшого дискусійний та рекомендаційний характер і стосуються термінології, поодиноких неточностей при викладенні матеріалу, окремих невлучних виразів і трактувань. Вони не торкаються суті роботи і не зменшують теоретичного значення та науково-практичної цінності дисертації та не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Аналіз дисертаційної роботи і автореферату Федчишена О.П. дає підстави вважати, що задачі дослідження вирішені, а мета наукової роботи досягнута. Але при ознайомленні з даною роботою виникли запитання, на які бажано отримати відповідь дисертанта в якості наукової дискусії:

1. Чи потребують хворі із тяжкою, неконтрольованою астмою саплеменації раціону вітаміном Д?
2. Чим можна пояснити зниження показника МВЛ при зменшенні концентрації вітаміну Д у крові?
3. Чи існує патогенетично обумовлений зв'язок між кателіцидином і вітаміном Д при бронхіальній астмі?
4. Чим Ви пояснюєте вищу сироваткову концентрацію загального IgE (основного маркера атопії!) при неатопічній формі астми?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Федчишена Олександра Петровича на тему «Патогенетичне значення антимікробних пептидів та недостатності вітаміну Д для діагностики та лікування бронхіальної астми у дітей», виконана у Вінницькому національному медичному університеті імені М. І. Пирогова МОЗ України під керівництвом доктора медичних наук, професора Дудник Вероніки Михайлівни, є завершеним самостійним науковим дослідженням, у якому наведено теоретичне узагальнення і нове практичне вирішення актуальної наукової задачі педіатрії – покращення контролю бронхіальної астми у дітей шляхом удосконалення діагностики та лікування з урахуванням патогенетичної ролі антимікробних пептидів та вітаміну Д. За актуальністю, науковою новизною, обсягом проведених досліджень та рівнем методологічного вирішення поставлених завдань дисертаційна робота Федчишена О.П. відповідає вимогам п. 11 Постанови Кабінету Міністрів України „Про порядок присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника” від 24 липня 2013 року № 567 року (зі змінами, внесеними згідно Постанов Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015 року та №1159 від 30.12.2015 року), які пред’являються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 - педіатрія.

Завідувач кафедри педіатрії та дитячих
інфекційних хвороб ВДНЗ України
"Буковинський державний медичний
університет", доктор медичних наук,
професор

О.К. Колоскова

Підпис проф. О.К.Колоскової засвідчую

Вчений секретар БДМУ



І.І.Павлуник

*Відкрити одностороннього власника
у спеціалізованому вченому році
до 01.06.2017 року на підставі
документів 2017р.*

Кт. секретар Д/З проф. Тосмаричи Ч.Т.