

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Кіцери Наталії
Іванівни на дисертаційну роботу
Дитятковського Володимира Олександровича

«Персоніфікований генотип-асоційований підхід до лікування та профілактики atopічних хвороб у дітей»,

подану до спеціалізованої вченої ради Д 26.553.01 при Державній установі
«Всеукраїнський центр материнства та дитинства НАМН України» на здобуття
наукового ступеня доктора медичних наук з галузі знань 22 «Охорона здоров'я»
за спеціальністю 228 «Педіатрія» (наукова спеціальність 14.01.10 – педіатрія)

Актуальність теми дисертації. Відомо, що найважливіші основи здоров'я людини визначаються генетичними чинниками та впливом зовнішніх факторів довкілля. Тому вивчення особливостей перебігу atopічних хвороб є надзвичайно актуальним, враховуючи особливості механізмів їх взаємодії та складність визначення ролі підвищеної чутливості імунної системи до певних алергенів в кожному конкретному випадку.

Атопічні хвороби є одними з найпоширеніших у дитячому віці, зокрема, atopічний дерматит вражає до 20% дітей, а бронхіальна астма зустрічається у 5-10% пацієнтів. Атопічні хвороби значно впливають на якість життя дітей та їхніх родин, оскільки такі симптоми як свербіж, висипи, задишка, постійний нежить викликають фізичний дискомфорт, порушення сну, зниження активності та соціальної адаптації нащадків. Часто відсутність ефективного контролю за хворобами може призводити до стресу і паніки у пацієнтів, особливо якщо симптоми важко піддаються лікуванню, що може негативно впливати на емоційне здоров'я і розвиток дитини. Хоча atopічні хвороби, як правило, мають хронічний перебіг, а симптоми зберігаються до підліткового віку чи старше, проте, правильне лікування і профілактика можуть значно полегшити симптоми і зменшити ризик загострень.

Важливим аспектом, який потрібно враховувати при вивченні atopічних хвороб, є генетична схильність: якщо батьки мають atopічний дерматит,

алергічні риніт або ринокон'юнктивіт, гостру кропив'янку, бронхіальну астму, то у нащадків є підвищений ризик розвитку цих хвороб.

Оскільки atopічні хвороби часто проявляються в ранньому віці, важливим є своєчасний діагноз і початок лікування. Це дозволяє зменшити тяжкість симптомів і запобігти розвитку ускладнень, таких як хронічний бронхіт чи риніт. Загалом, своєчасна діагностика і комплексний підхід до лікування допомагають значно знизити негативний вплив atopічних хвороб на здоров'я та розвиток дітей.

Саме тому необхідність формування генетичного прогнозу і персоналізованого підходу до кожної дитини із симптомами atopічної хвороби потребує розвитку генетичних досліджень вказаних патологій у кожній конкретній популяції.

В Україні проводяться дослідження, пов'язані з вивченням окремих нозологій atopічних хвороб, але результати молекулярно-генетичних аналізів, які базуються на визначенні однонуклеотидних варіантів (SNV-single nucleotide variants) різних генів, асоційованих з atopією, проведені у дітей, представлені лише в окремих роботах. Саме тому, дисертаційна робота Дитятковського Володимира Олександровича присвячена надзвичайно важливій проблемі у педіатрії - підвищенню ефективності лікування та профілактики atopічних хвороб у дітей шляхом передбачення розвитку різних форм цієї патології на основі розробки інтегрованих персоналізованих моделей діагностики, що включають визначення SNV генів, асоційованих з atopією, рівня загального імуноглобуліну E (IgE) та новітніх хемокінових біомаркерів.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій та зв'язок роботи з іншими науковими програмами. У дисертаційній роботі Дитятковського В.О. подано серйозне обґрунтування представлених наукових положень на підставі результатів генетичного аналізу, проведеного на популяційному, сімейному, індивідуальному, молекулярному рівнях. Результати кропіткої роботи дозволили сформуванати групи дітей для ретроспективного аналізу та проспективного спостереження в поєднанні з генетичним тестуванням кандидатних генів (*FLG* - філагрину, *TSLP* – тимічного

стромального лімфопоетину, *ORMDL3* - регулятора біосинтезу сфінголіпідів 3, *hr-NR3C1*- глюкокортикоїдного рецептора) та розрахунку відношення шансів щодо ризику розвитку atopічних хвороб і подальшого здійснення діагностичних і профілактичних заходів у дітей, хворих на atopічні хвороби.

Дисертаційна робота Дитятковського В.О. має послідовний та логічний дизайн дослідження. Для реалізації мети дисертантом вирішувалися чітко сформульовані завдання, яким відповідають отримані результати, підсумовані у висновках. Дисертантом детально опрацьована література з теми дослідження, особисто підібрано та використано сучасні методи дослідження, зібрано великий об'єм матеріалу, критично проаналізовано отримані результати та представлено дані про впровадження їх у практичну діяльність.

Дане наукове дослідження проводилося в рамках двох науково-дослідних робіт кафедри педіатрії №1 та медичної генетики Дніпровського державного медичного університету, які отримали цільове фінансування МОЗ України: «Генотип-асоційована персоналізація діагностичного та лікувального процесу у дітей з хворобами респіраторної, ендокринної та травної систем» (№ держреєстрації 0118U006629, термін виконання 2018-2022 рр.) та «Прецизійні підходи до діагностики та лікування соматичних та ендокринних захворювань у дітей» (№ держреєстрації 0123U105100, термін виконання 2023-2027 рр.). Дисертант був відповідальним виконавцем теми у 2018-2022 рр., та виконавцем фрагментів науково-дослідної роботи у 2023-2024 рр.

Дитятковський В.О. є співавтором 3 заявок на нововведення при ДО "Центр тестування" МОЗ України: «Спосіб персоналізованого генотип-асоційованого прогнозування ризику розвитку ізольованого ураження шкіри або верхніх дихальних шляхів (та органу зору) при atopічних захворюваннях у дітей методом визначення генотипів C/T Rs_7927894 гена *Flg* та C/G Snp Rs41423247 гена *Hr-Nr3c1*» (реєстр.№102/8/22); «Спосіб персоналізованої генотип-асоційованої діагностики ризику розвитку фенотипів atopічних захворювань у дітей: визначення генотипу C/T Rs_7927894 гена *Flg*, порогових сироваткових рівнів загального IgE та Cstack/Ccl27» (реєстр.№103/8/22); «Спосіб персоніфікованого генотип-асоційованого прогнозування ризику розвитку

фенотипів полі-органного ураження при atopічних захворюваннях у дітей методом визначення генотипів C/T Rs_7927894 гена *Flg*, T/T або C/T Rs_7216389 гена *Ormdl3*, A/A Rs_11466749 гена *Tslp* та C/G Snv Rs41423247 гена *Hr-Nr3c1*» (реєстр № 79/9/23).

Наукова новизна одержаних результатів дисертаційної роботи полягає у вперше проведеному комплексному генотипуванні дітей, хворих на atopічні хвороби, з використанням SNV-варіантів генів *FLG*, *TSLP*, *ORMDL3*, *hr-NR3C1*, а також у визначенні порогових концентрацій хемокінів TARC/CCL17 і STACK/CCL27 у сироватці крові для встановлення зі ступенями тяжкості atopічних хвороб та прогнозу розвитку фенотипів atopічного маршу. Вперше продемонстровано, що певні генотипи однонуклеотидних варіантів мають суттєвий вплив на траєкторію розвитку atopічного маршу, зокрема, генотипи *FLG*, *TSLP*, *ORMDL3*, *hr-NR3C1* асоційовані з підвищеним ризиком розвитку моно- і поліорганних фенотипів. Встановлено нові асоціації між генотипами та чутливістю до терапії глюкокортикостероїдами. Крім того, було вперше встановлено порогові значення хемокінів, що дозволяють прогнозувати ризик розвитку різних фенотипів хвороб, а також нові комбінації генотипів і біомаркерів, які визначають ризики розвитку atopічного маршу у дітей.

Важливо зазначити, що автор виявив закономірності впливу генотипів на перебіг atopічних хвороб у дітей, зокрема: гетерозиготний генотип C/T rs7927894 гену *FLG* асоційований з підвищеним ризиком моно- та поліорганного фенотипу atopічного дерматиту, в той час як гомозиготний генотип C/C має протективний ефект щодо даного ризиків; гомозиготний A/A rs11466749 гену *TSLP* пов'язаний з високим ризиком atopічних хвороб, тоді як A/G знижує ймовірність поліорганних форм; генотип T/T rs7216389 гену *ORMDL3* підвищує ризик поліорганного atopічного маршу, а C/C має протективний ефект. Також проведено аналіз поліморфізмів rs10052957 і rs41423247 гену *hr-NR3C1* на ризик важких фенотипів та чутливість до терапії глюкокортикостероїдами, а також визначено порогові рівні STACK/CCL27 для прогнозу розвитку atopічних хвороб та тяжкості atopічного дерматиту у дітей.

Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням, в рамках якого автор самостійно провів відбір хворих, сформував групи дослідження, здійснив клінічне спостереження та обробку результатів генотипування і біохімічних досліджень. Проведено опитування, фізикальне обстеження дітей, забір матеріалу для генотипування, оцінка тяжкості atopічного дерматиту та контрольованості бронхіальної астми.

Теоретичне значення результатів. Отримані дисертантом дані є суттєвим внеском в уявлення про патогенез різних фенотипів atopічних хвороб у дітей. Значною науковою цінністю роботи є розробка інтегральних моделей, які враховують одразу декілька предикторів ризику: генотипи відповідальних генів, рівні хемокінового біомаркеру STACK/CCL27, загального IgE, а також демографічні характеристики хворої дитини (вік, стать). Це дає змогу прогнозувати індивідуальну ймовірність розвитку моно-, оліго- та поліорганних фенотипів atopічних хвороб у кожної дитини.

Практична значимість результатів цієї роботи полягає у розробці новітніх, прецизійних та персоніфікованих моделей діагностики для управління atopічним маршем у дітей, які можуть бути використані лікарями алергологами, педіатрами та сімейними лікарями. Запропоновані дисертантом персоніфіковані прогностичні моделі мають виражений прикладний характер і впроваджені в кількох закладах охорони здоров'я та на кафедрах медичних університетів. Це створює передумови для набагато точнішої оцінки ризику розвитку і прогресування atopічних хвороб у дітей. Зокрема, врахування рівнів TARC/CCL17 та STACK/CCL27, а також індивідуальних генотипів дає можливість ефективніше контролювати та запобігати розвитку нових та поліорганних фенотипів atopічних хвороб, що забезпечить кращі прогнози і лікування для кожного пацієнта. Крім того, виявлення варіантів rs41423247 гена *hr-NR3C1* щодо чутливості/резистентності до препаратів глюкокортикостероїдів надзвичайно важливе з погляду безпеки лікування та поліпшення індивідуалізації терапевтичних протоколів. Впровадження таких моделей в 6 медичних закладах України допоможе відтермінувати значне прогресування

хвороби, частоту загострень та потребу в інтенсивній фармакотерапії у дітей з atopічними хворобами.

Оцінка структури, змісту та завершеності дисертаційної роботи. Дисертаційна робота викладена на 344 сторінках тексту, матеріали дисертації ілюстровано 107 таблицями та 67 рисунками. Список використаних джерел налічує 200 найменувань, з яких 176 - іноземних. Виклад матеріалу логічно пов'язаний з поставленою метою та завданнями, висновки, в цілому, відповідають поставленим завданням. У дисертації представлені усі необхідні розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень, узагальнення, висновки, практичні рекомендації. Власні результати викладені у 10 розділах. У розділах «Аналіз та узагальнення результатів» та «Висновки» підсумовуються отримані результати.

Відповідність автореферату змісту дисертації. Автореферат повністю відповідає змісту дисертаційної роботи.

Повнота огляду та аналізу літератури у напрямі дослідження. В огляді літератури Дитятковський В.О. всебічно та критично оцінює сучасну літературу, присвячену питанням стану досліджень щодо поширеності atopічних хвороб серед різних вікових груп дитячого населення, механізму atopічного маршу та ролі генетичних факторів, а також вплив метаболізму вітаміну D на розвиток цих захворювань. Автор детально аналізує генотипи, пов'язані з харчовою алергією, atopічними хворобами, а також вплив SNV генів, таких як філагрін, тимічний стромальний лімфопоетин, оросомукоїд-1-подібний білок 3 (регулятор синтезу сфінголіпідів 3), на розвиток цих захворювань. Окрім того, обговорює проблему прогресії atopічного маршу, роль генів рецепторів до глюкокортикостероїдів та можливі біохімічні маркери для оцінки тяжкості захворювання у дітей. Дисертант наводить літературні дані щодо ролі потенційних генів-кандидатів, асоційованих з бронхіальною астмою та atopічним маршем, що відкриває нові напрямки для діагностики та лікування.

Оцінка якості використаних методів досліджень, отриманих результатів, їх аналізу та обговорення. У розділі «Матеріали й методи дослідження» детально описано дизайн дослідження, критерії включення й

виключення, використані методи генотипування й визначення біомаркерів. Дисертантом представлено відомості про об'єкт та методи дослідження; залучено великий об'єм первинної інформації, медичної документації, зразків біологічного матеріалу пацієнтів. Загальний обсяг обстежених дітей склав 790 пацієнтів віком від 0 до 18 років у ретроспективному дослідженні, 293 дітей основної групи (з atopічними хворобами) і 105 дітей контрольної групи віком від 3 до 18 років в проспективному спостереженні. Таке системне багаторівневе обстеження із деталізованим аналізом основних клінічних фенотипів atopічних хвороб (моноорганних, олігоорганних і поліорганних) дало можливість отримати статистично достовірні результати й сформувані цілісний підхід щодо персоніфікованої діагностики й лікування.

Генотипування букального зішкребу проводилося за допомогою наборів TaqMan® для алельного дискримінаційного аналізу методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (qPCR). Статистичний аналіз проведено за допомогою загальноприйнятих методів. Категоріальні змінні представлено в абсолютних (N) та відносних величинах (%), порівняння між групами пацієнтів проведено за критерієм χ^2 Пірсона та точним критерієм Фішера для маленьких когорт. Описова статистика кількісних змінних включала перевірку нормальності розподілу за критерієм Шапіро-Уїлка та використання середнього значення (M), стандартної похибки ($\pm m$), стандартного відхилення (SD) та довірчого інтервалу (95% ДІ). Для порівняння вибірок використовували критерій Стюдента (t) та Манна-Уїтні (U) для непараметричних даних. Асоціації між SNV, хемокінами та фенотипами atopічних хвороб аналізували за допомогою кореляційного аналізу (коефіцієнти Спірмена та Бравайса-Пірсона), а прогностичні показники підтверджували за допомогою ROC-аналізу (Receiver Operating Characteristic) з розрахунком площі під кривою та показниками якості - специфічністю та сенситивністю. Логістичний регресійний аналіз використовувався для побудови моделей прогнозування шансів (ризик) розвитку фенотипів atopічного маршу. Для кожного предиктора розраховано діагностичні коефіцієнти та показники інформативності за коефіцієнтом

Кульбака. Всі вище наведені статистичні методи, які використані у дисертаційній роботі підтверджують коректність отриманих результатів.

Розділи з викладом результатів і їх обговоренням наводять великий обсяг фактичного матеріалу. Автор дотримується обраного формату, посилається на статистичну достовірність, підкріплює висновки графічними й табличними матеріалами. Результати дослідження представлено у наочній формі, у вигляді таблиць, рисунків, їх проаналізовано та співставлено з даними світової літератури. Отримані дані є базою для подальшої роботи з досліджень механізмів atopічних хвороб та взаємодії генів, подальшого розвитку системи діагностики та лікування дітей з цією проблемою.

Вважаю, що цікавими є результати, які допоможуть лікарям у їхній щоденній практиці, а саме те, що захворюваність на atopічний дерматит не збільшується з віком, однак має тенденцію до коморбідності з функціональними розладами біліарної системи (41,10%) та реактивним панкреатитом (19,18%). Захворюваність на алергічний риніт достовірно збільшується з віком та найчастіше поєднується з алергічним ринокон'юнктивітом (39,89%) і бронхіальною астмою (35,25%). Захворюваність на алергічний ринокон'юнктивіт збільшується з віком дітей та найчастіше поєднується з алергічним ринітом (37,92%) і бронхіальною астмою (22,86%).

Висновки логічно витікають із проведених досліджень, зроблених автором обґрунтовано, відповідно до сучасних уявлень, цілком відображають основний зміст роботи і привертають увагу до основних моментів проведеного дослідження.

Повнота викладу основного змісту дисертації в опублікованих працях у наукових фахових виданнях. Основні положення дисертаційної роботи представлено у 20 наукових працях, з яких 17 статті у фахових періодичних виданнях, у тому числі 11 – у журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз Scopus та Web of Science, з них 3 - у виданнях іноземних держав, що індексуються у Scopus та Web of Science. Автор належно розкрив тематику дисертації, публікації охоплюють основні наукові здобутки, усі

результати понад 20 разів доповідалися на наукових форумах (конференції, конгреси), зокрема, й за міжнародної участі.

При рецензуванні дисертаційної роботи виникли деякі побажання, запитання та зауваження: При позитивній оцінці роботи виникли окремі зауваження, які не впливають на високу оцінку дисертації, як фундаментального клінічного дослідження. Це стилістичні неточності, занадто громіздкі висновки, певна перевантаженість аббревіатурами, що утруднює сприйняття тексту.

Оскільки дисертантом проведена велика робота, що включає в себе детальне вивчення генетичних маркерів та їх асоціацій з atopічними захворюваннями, важливо зазначити, що майбутні дослідження могли б значно виграти від залучення фахівців з різних напрямків, таких як генетики, педіатри, неврологи тощо. Спільна робота цих спеціалістів дозволила б значно поглибити розуміння механізмів розвитку atopічних хвороб у дітей, враховуючи як генетичні, так і клінічні аспекти. Зокрема, важливим напрямком для подальших досліджень є детальне вивчення клініко-генеалогічного анамнезу кожної дитини з atopічною хворобою в порівнянні з визначенням SNV генів, асоційованих з atopією, та порогових концентрацій біомаркерів atopічних хвороб. Це дозволить виявити можливі генетичні або родинні схильності до розвитку таких захворювань, що може бути важливим фактором для ранньої діагностики та визначення ризику розвитку хвороб у майбутньому.

В плані дискусії та уточнення окремих положень, висунутих автором виникли такі запитання.

1. Як, на Вашу думку, пояснити той факт, що із збільшенням віку зменшується захворюваність на atopічний дерматит, якщо відзначається коморбідність з іншими захворюваннями?
2. Чи відомі Вам дані щодо розподілу частот atopічних хвороб у різних областях України та різних районах Дніпровської області?
3. У дисертації охарактеризовано значну кількість генотипів і встановлено їх асоціації з перебігом atopічних хвороб, проте цікаво було б почути думку автора про взаємодію виявлених поліморфізмів між собою та її ймовірний вплив на патогенез або прогресування atopічних захворювань, а також на

можливі прогностичні чи терапевтичні аспекти, пов'язані з цими генетичними варіаціями.

4. Хотілось би уточнити, чи серед жінок, які народили дітей atopічною хворобою, де Ви вважаєте причиною цієї недуги була генетична компонента, враховувалася професія подружжя та їх місце проживання до народження дитини?
5. Хто в основній групі серед родичів I ступеня спорідненості з atopічними хворобами мав найчастіше подібні проблеми – рідні сибси, мати чи батько?
6. Як, на Вашу думку, можна вдосконалити лікування дітей з atopічними хворобами з низькою чутливістю до терапії, враховуючи індивідуальні генетичні особливості, фактори навколишнього середовища та можливість застосування новітніх методів лікування?

Але усі зазначені недоліки та питання, які виникли в процесі рецензування, не принципові, не впливають на позитивне враження від роботи та не зменшують її теоретичного та практичного значення.

Висновок Докторська дисертація Дитятковського Володимира Олександровича «Персоніфікований генотип-асоційований підхід до лікування та профілактики atopічних хвороб у дітей», розкриває нові підходи до вирішення актуальної проблеми педіатрії – підвищення ефективності лікування та профілактики atopічних захворювань у дітей на основі індивідуальних генетичних характеристик пацієнтів. Автор пропонує використовувати генотипування для виявлення специфічних маркерів ризику розвитку atopічного маршу, що дозволяє персоналізувати терапевтичні стратегії. Завдяки цьому підходу можливо здійснювати більш точну оцінку ризику розвитку atopічних хвороб, що сприяє вибору найбільш ефективних методів лікування та профілактики в залежності від генетичних особливостей кожної дитини. Цей підхід також дозволяє зменшити частоту неадекватних терапевтичних стратегій і покращити клінічні результати у дітей з atopією. Дисертаційна робота носить характер клінічних фундаментальних досліджень, результати яких обґрунтовують практично важливі рекомендації з ранньої діагностики atopічних хвороб, прогнозування ускладнень, підвищення ефективності лікування та

попередженню формування соціально значущої патології з раннього дитячого віку.

Дисертаційна робота за своєю актуальністю, новизною, теоретичним значенням та практичною цінністю, глибиною та обсягом проведених досліджень, ступенем обґрунтованості наукових досліджень, висновків і практичних рекомендацій, з повнотою викладення матеріалу в наукових статтях та апробації на наукових форумах повністю відповідає вимогам, передбаченим пп.7, 8, 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук» (Постанова КМ України від 17.11.2021 №1197), які висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук та вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим Наказом МОН України від 12.01.2017 №40, а її автор Дитятковський В.О. заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю «Педіатрія» (наукова спеціальність 14.01.10 – педіатрія)

Офіційний опонент,
професор кафедри медичної біології
та медичної генетики
Івано-Франківського національного
медичного університету МОЗ України,
доктор медичних наук, професор



Н.І. Кіцера

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ		
ЗАСТУПНИК РЕКТОРА (НАЧАЛЬНИК ВІДДІЛУ КАДРІВ)		
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ		
«18»	<i>Pa</i>	2025р.
Підпис	<i>Кицера</i>	
Прізвище	<i>Кицера</i>	

вх. 19.02.2025р.