

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Зубченко Світлани Олександрівни «Алергічні хвороби та хронічна Епштейна-Барр вірусна інфекція: патогенез, діагностичні підходи і терапевтична тактика ведення хворих», поданої до спеціалізованої вченої ради Д 64.051.33 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.08 - імунологія та алергологія.

Актуальність обраної теми.

Відома гігієнічна гіпотеза розвитку алергічних захворювань, яка передбачає зв'язок частих респіраторних вірусних інфекцій із розвитком респіраторної алергії (алергічний риніт, алергічна астма) [von Mutius E., 2007]. Вплив вірусних інфекцій викликає зміщення імунного балансу у бік Т2 імунного запалення [Tracy Hussell, 1996]. Серед достатньо вивчених респіраторних вірусів, які мають значення для розвитку алергічних захворювань, згадують респіраторно-синцитіальний вірус, аденовіруси, риновіруси, вірус грипу, корона віруси, бокавіруси, метапневмовіруси [Edwards MR, 2017].

Разом із тим в популяції широко розповсюджуються герпесвіруси, які можуть певною мірою як сприяти розвитку алергічних захворювань, так і ускладнювати або взаємообтяжувати перебіг захворювань. Найбільш виразно це простежується для алергічних реакцій на медикаменти [Hashimoto K et al., 2003].

Роль герпесвірусів у розвитку алергічних респіраторних захворювань залишається маловивченою, так само як і взаємний вплив герпесвірусної інфекції та респіраторних алергічних захворювань.

Вибір авторкою інфекції, викликаной вірусом Епштейна-Барр (EBV) обумовлюється надзвичайно широкою розповсюдженістю та специфічною імунотропною дією віруса. Отже, вивчення впливу EBV на імунні та імунозалежні механізми перебігу АХ на тлі активної та латентної фаз хронічної

EBV-інфекції є актуальним, і може сприяти оптимізації діагностичної та лікувальної тактики ведення хворих на АХ на тлі хронічної EBV-інфекції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.
Дисертаційну роботу виконано на кафедрі клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького відповідно до НДР № 0118U000110 «Прогнозування розвитку вірус-індукованих фенотипів імунозалежних хвороб із персоніфікацією їх діагностики та лікування».

Наукова новизна.

В дисертаційній роботі отримані нові дані про вплив вірусних miRNAs (mir-BART-13, mir-BART-15) на стан імунної системи та перебіг алергічних захворювань.

Вперше застосована панель ІЛ-1, ІЛ-33, ІЛ-17, ІЛ-12 та ІЛ-10 для визначення показів для імуномодельючої терапії хворих на АХ на тлі хронічної EBV-інфекції.

Отримано подальші підтвердження доцільності застосування мультиплексного визначення специфічних ІгЕ та проведення шкірних тестів з високо стандартизованими екстрактами алергенів в комплексній діагностиці алергічних захворювань. Уточнені дані щодо спектру алергенів, до яких виявляються специфічні ІгЕ та позитивні результати шкірних проб в західних областях України.

Авторкою встановлений новий факт зниження рівня кінцевих продуктів глікації (advanced glycation end-products) у сироватці крові хворих на АРі та БА.

Уточнена схема курсу протівірусної терапії інозитом пранобексом та її ефективність для подальшої алергенспецифічної імунотерапії.

Достовірність положень, сформульованих у дисертації.

Авторкою проаналізований великий клінічний матеріал (365 осіб).

Робота виконана на достатньому науково-методичному рівні, що надало змогу отримати достовірні результати. Під час виконання роботи дисертантом були застосовані сучасні імунологічні, молекулярно-генетичні методи, мультиплексний колориметричний аналіз для визначення сІгЕ, а також сучасні

методи статистичної обробки первинної інформації. Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації підтверджується наявністю чітко сформульованих задач дослідження, достатнім обсягом проведених досліджень та наявністю статистично достовірних результатів.

Практичне значення представленої роботи

Практичне значення роботи полягає в необхідності обстеження пацієнтів з алергічними захворюваннями на наявність хронічної EBV-інфекції, яка може обтяжувати їх перебіг та знижувати ефективність алергенспецифічної імунотерапії. Підтверджена важливість комплексного підходу до діагностики алергічних захворювань – збір скарг, анамнезу, проведення шкірного тестування, визначення специфічних IgE.

Важливим практичним результатом роботи є підвищення ефективності алергенспецифічної імунотерапії у хворих з активною EBV-інфекцією попередньою імуномодельюючою терапією інозит пранобексом.

Результати роботи достатньо впроваджені в діяльність 8 лікувальних закладів і науково-педагогічний процес 4 навчальних закладів.

Аналіз змісту дисертації.

Як свідчить детальний аналіз представленої наукової роботи, виконана дисертація побудована класично, викладена українською мовою на 332 сторінках машинописного тексту, включає: вступ, огляд літератури, характеристики хворих і методів дослідження, семи підрозділів власних досліджень, узагальнення результатів дослідження, загальних висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і додатків. Робота ілюстрована 23 таблицями та 75 рисунками. Список використаних джерел містить 360 найменувань, у тому числі 281 зарубіжних.

У **вступі** дисертантом обґрунтована актуальність теми, якій присвячена дана дисертаційна робота, міститься мета та завдання роботи, наукова новизна та практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувачки, інформація про публікації та апробацію результатів роботи.

Зауваження: В підрозділі наукової новизни наведено багато проміжних результатів, які недостатньо узагальнені; окремі результати є новими підтвердженнями або уточненнями вже існуючих фактів, наприклад, «значущість ШПТ для скринінгових досліджень».

У розділі 1 присвячений аналізу сучасного стану проблеми дисертаційного дослідження.

Даний розділ складається з п'яти підрозділів, написаний літературною мовою в традиційному вигляді, де авторка розкриває сучасний стан поглядів на проблемні аспекти причин поширеності АХ, асоційованих з сенсibiliзацією до респіраторних алергенів і ролі імунотропних вірусів з родини *Herpesviridae*, в т.ч. EBV у їх формуванні. Слід відмітити, що дисертантом проведено літературний пошук даних щодо ролі різних груп цитокінів, кінцевих продуктів глікації, мікроРНК не лише у патогенезі розвитку АХ, а й при вірусних інфекціях, в т.ч. EBV. Автором також проведений детальний аналіз літературних даних щодо недоліків і переваг різних підходів до діагностики АХ, з включенням сучасного методу багатокомпонентних досліджень і важливості вивчення сенсibiliзуючого профілю причинних алергенів. Автор детально характеризує механізми алерген-специфічної імунотерапії, проводить огляд наукових даних з вивчення безпечності та різних критеріїв моніторингу ефективності АСІТ. Розділ завершується логічним висновком.

Огляд складений у логічній послідовності аналізованих джерел інформації, доповнений рисунками, викладений з достатньою повнотою, з використанням достатньої кількості літературних джерел, переважно англomовних.

У другому розділі наведені дані щодо дизайну роботи, критеріїв формування груп пацієнтів, використані сучасні методи дослідження. Дисертант дає характеристику хворих і опис методів дослідження: клінічні (анамнез життя (анкетування), дані клінічного обстеження), загально-лабораторні (загальний аналіз крові), цитологічні (цитологічне дослідження мазку-відбитку слизової оболонки порожнини носа), інструментальні (спірометрія, визначення NO в повітрі, що видихається), алергологічні

(методика проведення шкірних прик-тестів), імунологічні (імуноферментний аналіз для визначення VCA IgG, VCA IgM і EBNA-IgG, загального сироваткового IgE; мультиплексний колориметричний аналіз для визначення sIgE, флуоресцентна спектроскопія та імуноферментний методи для визначення AGEs; молекулярно-генетичні (ПЛР для виявлення ДНК EBV, miRNAs), хемілюмінесцентний метод для визначення цитокінів, соціологічні (опитувальники). Детально викладені сучасні методи статистичної обробки результатів, які обрані для вирішення поставленої мети та сформульованих завдань дослідження.

Обсяг методів дослідження та статистичної обробки відповідає поставленим завданням та сучасним вимогам. Для кращого сприйняття інформації з даного розділу, дисертант представляє рисунки і таблиці.

Третій розділ «Результати власних досліджень» складається з семи підрозділів. У підрозділі 3.1 представлений детальний аналіз анамнестичних, клінічних, лабораторних, інструментальних, алергологічних та імунологічних даних щодо верифікації різних АХ і поширеності хронічної EBV-інфекції серед них. Проведений порівняльний аналіз клінічних даних і результатів різних діагностичних показників хворих на АХ залежно від фаз персистенції вірусу. У підрозділі 3.2 викладені результати мультиплексного визначення сенсibiliзуючого профілю причинних алергенів у резидентів західних областей України (на підставі ALEX-тесту), охарактеризовано молекулярні ендотипи різних нозологій АХ і сформовані молекулярно-прогностичні моделі персоніфікованого ризику формування АР і БА на тлі активної фази EBV-інфекції. У підрозділі 3.3 проведено дослідження верифікативності діагностики алергопатології на основі порівняльного аналізу різних діагностичних методів з урахуванням хронічної EBV-інфекції. Вивчення впливу EBV на імунні та імунозалежні механізми розвитку і перебігу АРі та БА описано в розділах 3.4-3.6. Автор подає результати дослідження рівнів miR-BART-13, miR-BART-15, miR-146a та miR-155 у пацієнтів з АРі та БА на тлі хронічної EBV-інфекції; проводить порівняльний аналіз рівнів різних груп цитокінів у пацієнтів з АРі та БА і хронічною EBV-інфекцією залежно від фаз вірусної персистенції

визначення кореляційних взаємозв'язків цитокінів з miR-146a і miR-155; досліджує та аналізує особливості синтезу AGEs і їх взаємозв'язку з цитокінами у пацієнтів з АРі та БА залежно від фаз хронічної EBV-інфекції. У підрозділі 3.7 дисертант представляє результати трьохмісячного лікування пацієнтів з АРі та БА на тлі хронічної EBV-інфекції в активній фазі інозинпранобексом, які продемонстрували клінічну, вірусологічну та імунологічну ефективність. У цьому ж розділі представлені результати аналізу ефективності та безпечності АСІТ з використанням різних способів введення алерговакцини (сублінгвального та підшкірного) і різних критеріїв оцінювання. Слід зазначити, що розділи дисертаційного дослідження закінчуються відповідними висновками, які акцентують увагу читача на основних здобутках дисертанта.

У наступному **четвертому** розділі «Аналіз та обговорення результатів» дисертант узагальнює результати проведеного дослідження у порівнянні з результатами, поданими в наукових літературних джерелах. Розділ закінчується розробленим автором покроковим алгоритмом ведення пацієнтів з АРі та БА на тлі хронічної EBV-інфекції.

Вважаю за необхідне відзначити, що методи дослідження, які використовує автор, є сучасними та відповідають поставленій меті та завданням.

Як свідчать результати проведеного рецензування, власні дані викладені послідовно і методологічно правильно, належно проведена авторкою рандомізація груп дослідження дає можливість вважати їх однорідними та репрезентативними, що дозволило коректно застосувати статистичні методи обробки результатів, сформулювати статистичні залежності, забезпечити точність, однозначність трактування та достовірність наукових результатів.

Обґрунтованість наукових положень дисертації та їх достовірність.

Дисертація Зубченко С.О. є закінченим науковим дослідженням, яке базується на результатах достатньої кількості власних спостережень, отриманих автором. Чіткий дизайн дослідження, обраний для досягнення мети, чітке формулювання завдань, що відповідають меті роботи, значний обсяг досліджень, сучасний рівень використаних наукових методів дослідження,

адекватність застосованих статистичних методів аналізу дозволяють вважати подані автором наукові положення, висновки та практичні рекомендації науково обґрунтованими та достовірними.

Повнота викладення результатів дисертації.

Результати дисертаційної роботи достатньо повно відображені у 63 наукових працях, серед яких 20 статті в наукових фахових виданнях України, 12 – у провідних наукових виданнях інших держав (у т.ч. 8 статей у виданнях, що мають імпакт-фактор і входять до наукометричних баз даних Web of Science та Scopus, 3 одноосібні роботи), 5-х статтях, що додатково відображають зміст дисертації (у т.ч. одна входить до наукометричної бази Web of Science), 1 методичні рекомендації та 1 інформаційний лист, 24 тез доповідей на фахових вітчизняних і міжнародних наукових конференціях (з них 8 тез у наукових виданнях, що мають імпакт-фактор і входять до наукометричних баз даних Web of Science).

Рекомендації щодо використання результатів дисертації на практиці.

Обґрунтованість висновків робить доцільним використання і впровадження результатів роботи в практику відділень, що надають допомогу хворим на АХ, зокрема, щодо попередньої імунотропної терапії активної EBV інфекції перед початком алерген специфічної імунотерапії та алгоритм діагностики IgE-залежних алергічних захворювань.

Недоліки дисертації та автореферату і зауваження щодо їх змісту та оформлення.

До розділу 1:

Звертає на себе увагу перевантаження загальновідомими фактами (розділ складається з 47 сторінок) та зайва і невдала структурованість розділу (п'ять підрозділів ще структуруються на два-три). Підрозділ 1.4.2 присвячений даним про значення кінцевих продуктів глікації при алергічних захворюваннях, але недостатньо обґрунтовує вибір цього окремого показника для подальших досліджень.

До розділу 2:

Зауваження: Вибрана авторкою схема наведення матеріалу ускладнює його сприйняття. Доцільним було б послідовно навести спочатку формування груп спостережень, потім методики та схеми лікування і, нарешті, методики клінічного, лабораторного та інструментального обстежень.

До розділу 3:

Зауваження: В таблицях 3.4, 3.5, 3.6 не виконаний статистичний аналіз порівняння. Підписунокій підпис «Рис. 3.6 Розподіл біохімічних родин білків у пацієнтів групи дослідження», не відповідає наведеним даним. Має бути – частота зустрічаємості специфічних IgE до алергенів біохімічних родин білків. Аналогічно, Рис. 3.17 Порівняльний аналіз біохімічних родин алергенних білків у пацієнтів на тлі хронічної EBV-інфекції з активною і латентною фазами вірусу та EBV-серонегативних осіб. Також не проведений статистичний аналіз відмінностей.

Щодо «молекулярних ендотипів» персистуючого та інтермітуючого алергічного риніту складається враження, в групі персистуючого риніту йдеться про цілорічний риніт, викликаний побутовими алергенами, із сезонними загостреннями (пилкові та спорові алергени) (рис 3.18).

Дискусійним є визначення «порогових значень молекулярних компонентів» при алергічних захворюваннях у пацієнтів досліджуваних груп, без застосування провокаційних інгаляційних чи назальних проб (або хоча б визначення алергічних симптомів протягом сезону пилкування!).

Доцільним було б також застосовувати українськи транскрипції написання назв сімейств білків «Beta-Expansin, Expansin, NPC 2, PR 10» тощо.

На сторінки 151 наведені результати порівняння результатів ШПК та визначення специфічних IgE. Авторка при порівнянні виходить з чутливості визначення специфічних IgE 100%. При цьому ототожнює наявність специфічного IgE, позитивний ШПТ та наявність алергічного захворювання без проведення провокаційних проб, без оцінки динаміки пилкування та наростання клінічних проявів.

При визначенні впливу EBV на шкірну реактивність автор намагається

оцінити ступінь розвитку реакції на діагностичні алергени, але не наводить дані щодо реактивності таких хворих на розчин гістаміну, що суттєво могло збагатити отримані дані.

При аналізі показників ОФВ1 та тесту зворотності складається враження що пацієнти були в стадії загострення бронхіальної астми та не отримували ніякого лікування (табл. 3.11).

В розділі 3.7 авторка підкреслює «За даними чисельних досліджень єдиним етіологічним і патогенетичним методом лікування АХ, який володіє здатністю модифікувати природний перебіг алергопатології є АСІТ або алерговакцинація». В той же час відомі високоефективні фармакологічні підходи до патогенетичного лікування алергічних хвороб, в тому числі алергічного риніту та алергічної астми.

На сторінці 187 наведено «Як видно з таблиці 3.16, ми отримали збільшення регуляторних цитокінів IL-12, IL-10 ($p < 0,05$) через три роки як при БА...», має бути місяця. На тій же сторінці «Кінцевим елементом оцінки ефективності лікування інозин пранобексом був аналіз числа копій EBV у біологічних середовищах пацієнтів до та після лікування. Результати дослідження наведені у таблиці 3.17.», таблиця не містить відомостей щодо власно числа копій, а лише про виявлення чи не виявлення ДНК вірусу.

В розділі 3.7.3 «Комбінована оцінка ефективності АСІТ» наведені результати позитивного ефекту алергенспецифічної імунотерапії до та після лікування. В попередньому підрозділі авторка пише, що пацієнти додатково отримували фармакотерапію препаратами різних груп, що висуває питання необхідності порівняння із групою тільки з фармакотерапією алергічних захворювань.

Авторка наводить «Прикладом зниження потреби прийому препаратів було те, що якщо пацієнти на АСІТ з БА отримували на початку терапії Будесонід-інтелі в дозі 200,0 мкг по 2 інгаляції двічі на добу, то вже наприкінці першого року АСІТ дозу зменшили до 50,0 мкг по 2 інгаляції на добу...», ці дані разом із даними про рівень ОФВ1 та тестом зворотності свідчать про недостатню фармакотерапію на початку дослідження. Крім того, ніде не

наведено саме яку фармакотерапію та як довго отримували пацієнти на початку імунотерапії.

В цілому, висловлені зауваження суттєво не впливають на значущість отриманих наукових результатів.

При ознайомленні з дисертацією виникли деякі питання:

1. В групах досліджень алергічної астми та алергічного риніту (інтермітуючого) на фоні EBV інфекції необхідно уточнити чи були алергічні захворювання в стадії загострення?
2. При аналізі показників ОФВ1 та тесту зворотності складається враження що пацієнти були в стадії загострення бронхіальної астми та не отримували ніякого лікування (табл. 3.11). Виникає питання, якщо бронхіальна астма в стадії загострення, то не може вона провокувати активність EBV інфекції?
3. Під час порівняння специфічності та чутливості визначення специфічних IgE та ШПТ в діагностиці алергічних захворювань авторка наділяє визначення sIgE 100% специфічністю. Разом із тим відомо, що наявність sIgE не є підставою постановки діагнозу алергічного захворювання без клінічних проявів, часто є необхідним проводити провокаційні проби. Як дисертантка бачить вирішення комплексної проблеми постановки діагнозу, виявлення причинного алергену, виділення провідного алергену за наявності кількох знайдених алергенів?
4. Авторка висловлює «думку про наявність процесу взаємодії AGEs з їх рецепторами, тобто "стресу AGE-RAGE", тобто – формуванням більш тяжких тканинних порушень, що клінічно супроводжувалось симптомами БА, АРі» у хворих з EBV інфекцією. Що мається на увазі під тяжкими тканинними порушеннями у хворих на респіраторні алергічні захворювання?
5. Потребує уточнення, що малось на увазі під термінами верхніх назальних та неносових симптомів АРі та верхніх і нижніх симптомів при БА?
6. В преамбулі до висновків дисертантка описує наукове завдання вивчення «впливу EBV на імунні та імунозалежні механізми розвитку та перебігу АХ», яка різниці вкладається в поняття «імунні» та «імунозалежні» механізми?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Зубченко Світлани Олександрівни «Алергічні хвороби та хронічна Епштейна-Барр вірусна інфекція: патогенез, діагностичні підходи і терапевтична тактика ведення хворих», що представлена до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.051.33 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук, є завершеною працею, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати, в сукупності є суттєвими для розвитку імунології та алергології і вирішують наукову задачу - вивчення впливу вірусу Епштейна-Барр на клінічний перебіг алергічного риніту та алергічної бронхіальної астми, оптимізації діагностичної та терапевтичної тактики ведення таких хворих. За своєю актуальністю, науковою та практичною значущістю, одержаними результатами та об'ємом досліджень, кількістю наукових публікацій та рівнем впровадження дисертаційна робота Зубченко Світлани Олександрівни відповідає вимогам п. 9, 10, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 (зі змінами) щодо докторських дисертацій, а її автор – Зубченко Світлана Олександрівна заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.08 - імунологія та алергологія.

Проректор з наукової роботи
Полтавського державного
медичного університету,
д.мед.н., професор



Кайдашев І.П.