

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Кучми Максима Вячеславовича
**«Особливості вакцинального імунітету і способи підвищення
ефективності противірусних щеплень у дітей з хронічною ВЕБ-
інфекцією»**, подану на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук
за спеціальністю 14.03.08 - імунологія та алергологія

Актуальність теми дисертації

Епштейна-Барр вірусна інфекція належить до найбільш розповсюджених інфекційних хвороб дитячого віку. Щорічно у світі, зокрема в Україні, підвищується кількість таких пацієнтів, що пов'язано у тому числі з покращенням якості діагностики. В останні роки пильну увагу привертає проблема хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції (ХВЕБІ), при цьому враховується не тільки медична, але й соціальна значимість проблеми. Дослідженнями доведено, що тривале перебування в активній формі і реплікація ВЕБ індукують вторинний імунодефіцит, що має наслідком, зокрема, підвищену захворюваність на інфекційні хвороби з довготривалим перебігом і виникненням ускладнень у частини пацієнтів з ХВЕБІ. Порушується нормальний ріст і розвиток хворих, знижується якість життя дитини та її батьків. При тому будь-яке інтеркурентне інфікування організму хворого з ХВЕБІ, впливаючи на ослаблену імунну систему, здатне посилити ризик ініціювання низки злоякісних пухлин (лімфома Беркітта, нозофарингеальна карцинома та ін.), автоімунних хвороб (системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит), хронічного гепатиту, увеїту, патологій нервової системи (енцефаліти, менінгіти, мієліти, полірадикулонейропатії), синдрому хронічної втомлюваності, роль ВЕБ у розвитку яких на теперішній час повністю доведена.

Тому наразі, особливо в період активізації спалахів небезпечних інфекцій, зокрема кору, надзвичайно важливим є запобігання захворюваності пацієнтів з ХВЕБІ, найважливішим з інструментів якого є вакцинація – надійний і випробуваний засіб імунологічної профілактики.

Здобувачем на підставі власних досліджень виявлено недостатність загального імунітету 6-7річних дітей з ХВЕБІ, які втратили захисні титри специфічного імунітету до кору, краснухи та епідемічного паротиту, у періоді перед ревакцинацією, визначено її основні ланки, обґрунтовано проведення передвакцинального лікування комплексом препаратів, який справляє протівірусний, імуномодулюючий та клітинно-метаболический вплив, нормалізує змінені імунологічні показники і дає змогу для формування повноцінного напруженого захисного імунітету після ревакцинації. Таким чином, дисертаційна робота Кучми М.В. присвячена актуальній проблемі сучасної медицини: означенню основних факторів формування напруженого та довгострокового специфічного імунітету та підвищення ефективності вакцинації проти кору, епідемічного паротиту та краснухи (КПК) у дітей з ХВЕБІ.

Робота виконана відповідно до основного плану науково-дослідних робіт ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України»: «Особливості формування вакцинального імунітету після планового щеплення дітей з хронічною герпесвірусною інфекцією», номер держреєстрації 0115U000544; «Вивчення індивідуальних особливостей порушень імунної відповіді на вакцинацію з метою персоніфікації імунопрофілактики у дітей дошкільного віку», номер держреєстрації 0118U004053.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації

Дисертаційна робота Кучми М.В. виконана на достатній кількості клінічного матеріалу. Дисертантом обстежено 120 дітей з ХВЕБІ віком 6-7 років (дівчат було 40 %, хлопчиків – 60%), які потребували ревакцинації проти кору, краснухи та епідемічного паротиту згідно з календарем вакцинації України. Групу контролю склали 50 клінічно здорових дітей порівняних за віком та статтю, в анамнезі яких був відсутній перенесений інфекційний мононуклеоз, в їх крові та слині не знайдено ДНК ВЕБ, в крові відсутні IgM та не підвищені рівні IgG до антигенів ВЕБ. Наявність двох

дослідних груп хворих (ті, які мали захисний титр специфічних антитіл проти кору, краснухи і епідемічного паротиту і ті, в яких не було напруженого специфічного імунітету проти цих інфекцій) дала можливість дисертанту визначити фактори імунітету хворих з ХВЕБІ, що призводять до формування недостатнього специфічного імунітету, а також до швидкої втрати його рівня з часом.

Для визначення ефективності передвакцинальної комплексної терапії хворих з ХВЕБІ група, яка не мала захисних титрів специфічних антитіл перед ревакцинацією, була розподілена на дві частини – основну та зіставлення. Ці групи розрізнялися застосуванням передвакцинальної комплексної терапевтичної підготовки. Хворі групи зіставлення (30 осіб) не отримували комплексної терапії. Хворим основної групи (35 осіб) була призначена терапія протягом 1 місяця до вакцинації, яка складалася з препаратів противірусної і одночасно імуномодулюючої дії, основними лікувальними складовими яких були: інозин пранобекс, людський рекомбінантний ІФН α -2b, екстракти *Deschampsia caespitosa* L. та *Calamagrostis epigeios* L., а також препарату, моделюючого клітинний метаболізм, діючою речовиною якого була заміна амінокислота - цитруліну малат. Така побудова груп дала можливість методично правильно провести дослідження і забезпечити обґрунтованість результатів та висновків.

В роботі було використано комплекс загальноклінічних та сучасних імунологічних, цитологічних, культуральних, молекулярно-генетичних лабораторних досліджень. Слід зазначити, що отримані в роботі результати були оброблені за допомогою сучасних статистичних методів дослідження, які дали змогу досягти високого ступеня обґрунтованості наукових положень та сформулювати висновки дисертації. Методично робота побудована правильно і логічно, з можливістю використання практичних рекомендацій в клінічній практиці.

Наукова новизна та практична значущість отриманих результатів

Дисертантом вперше було проведене комплексне імунологічне дослідження стану та напруженості специфічного імунітету до кору, епідемічного паротиту, краснухи перед ревакцинацією, а також перебігу вакцинального процесу у дітей старшого дошкільного віку з ХВЕБІ. Було визначено взаємозв'язок між окремими показниками загального імунітету та станом специфічного імунітету до КПК у дітей з ХВЕБІ. Виявлено, що слабка імунна відповідь на щеплення проти КПК у дітей з хронічною ВЕБ інфекцією пов'язана з дисбалансом субпопуляційного складу лімфоцитів, зниженням кількості $CD4^{+}$ -, $CD25^{+}CD4^{+}$ -, $CD8^{+}CD11b^{-}$, $Th1(IFN\gamma^{+})$ -клітин, збільшенням вмісту $CD8^{+}CD11b^{+}$ -клітин, зниженням проліферативної здатності лімфоцитів, низькою поглинальною, біоцидною та метаболічною активністю лейкоцитів. Пошукувачем вперше встановлено, що для дітей з ХВЕБІ з відсутністю стійкого захисного імунітету проти референтних вірусних інфекцій є характерним порушення цитокінової регуляції імунної відповіді, розбалансованість співвідношення про- та протизапальних цитокінів, збільшення рівня прозапальних цитокінів $IL-1\beta$, $IL-2$, $TNF\alpha$ поряд з недостатністю продукції $IFN\alpha$ та $IL-4$. Вперше було виявлено виснаження функціональних резервів мононуклеарів у дітей з ХВЕБІ - спонтанна та індукована продукція $IL-4$ та індукована продукція $TNF\alpha$, $IFN\alpha$, $IL-10$ поступалася аналогічним показникам здорових дітей, також виявлено зменшення концентрацій $IL-15$ та $IL-21$ цитокінів, які необхідні для формування імунологічної пам'яті, зниження утворення В- та Т-клітин пам'яті, причому як центральних (ТСМ), так і ефektorних (ТЕМ, ТЕМРА).

Здобувачем досліджено та доведено ефективність застосування передвакцинальної комплексної терапії, що поєднує препарати противірусної, імуномодулюючої та дезінтоксикаційної дії, яка включає інозин пранобекс (Нормомед), рекомбінантний $IFN\alpha-2b$ (Віферон), спиртовий екстракт *Deschampsia caespitosa* L. та *Calamagrostis epigeios* L. (Протефлазид), цитруліну малат (Стимол) в комплексній корекції імунних порушень у дітей, хворих на ХВЕБІ, і справляє достовірний стимулюючий

вплив на формування напруженого стійкого специфічного імунітету за вакцинації проти КПК.

Значення результатів дисертації для науки і практики

Результати, отримані Кучмою М.В., спрямовують новий напрямок у підвищенні ефективності вакцинопрофілактики у хворих з ХВЕБІ, досягнення їх захисту від небезпечних інфекцій. Дисертант довів високу ефективність довакцинальної терапії для успішного формування захисного специфічного імунітету у дітей з ХВЕБІ, що складається з препаратів одночасної прямої противірусної та імуномодуляторної дії (нормомед, віферон, протифлазид) у комбінації з замінною амінокислотою (стимол) – інтенсифікатором метаболізму клітин імунної системи. Важливо, що терапевтичний комплекс виявився високоефективним щодо позитивного впливу на імунологічні показники, забезпечуючи їх нормалізацію перед щепленням і сприяючи формуванню напруженого специфічного вакцинального імунітету, а дослідження стану загального імунітету хворих перед ревакцинацією дозволили окреслити прогностичні ознаки хворих з ХВЕБІ, які потребують означеної передвакцинальної підготовки.

Результати дисертаційної роботи впроваджені у навчальний процес на кафедрах мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗУ, мікробіології, вірусології та імунології ім. професора Д. П. Гриньова, дитячих інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету МОЗУ, клінічної імунології та мікробіології та поліклінічної педіатрії Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗУ, у лікувальну практику Центру мікробіології та імунології, медичного оздоровлюючого центру Fortis.

За результатами проведеного дослідження дисертантом отримано патент України № 132004 від 11.02.20019 «Спосіб прогнозування можливості прояву побічних реакцій на вакцинацію у дітей».

Побудова та зміст дисертації

Дисертаційна робота написана українською мовою за традиційною схемою. Основні положення роботи викладені чітко, ясно та аргументовано. Текст роботи викладено на 179 сторінках машинопису і складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел (165 найменувань). У «Вступі» дисертації обґрунтована актуальність теми, сформульована новизна, практичне значення результатів, особистий внесок здобувача, мета і задачі дослідження. Задачі повністю відповідають меті дослідження, спрямовані на її досягнення.

Перший розділ дисертації подано у вигляді огляду літератури, в якому наведено сучасний погляд на епідеміологічні, патогенетичні та клінічні особливості інфекції, спричиненої вірусом Епштейна-Барр, механізми уникнення ЕБВ імунологічного контролю, діагностику та лікування інфекції, спричиненої вірусом, а також проблеми вакцинопрофілактики дитячих інфекцій та шляхи їх подолання, в тому числі, серед контингентів з хронічними захворюваннями. Проведено аналіз літературних джерел про стан імунітету і терапевтичні заходи за різних форм інфекції ЕБВ. Обґрунтовано призначення засобів з противірусними та імуномодулюючими властивостями. Здобувачем проаналізовано вітчизняні та іноземні джерела, переважно останніх 5 років, щодо характеристики даних питань.

Другий розділ присвячений матеріалам та методам дослідження. В ньому наведені дизайн дослідження, загальна характеристика обстежених хворих - проаналізовані стать, вік дітей з ХВЕБІ, що були обстежені, принципи постановки діагнозу хронічна ВЕБ інфекція та відбору хворих для досліджуваної групи; склад контрольної групи. Дисертантом виявлено, що серед хворих з ХВЕБІ найчастіше зустрічається атипичний клінічний варіант захворювання, який характеризується неспецифічністю та поліморфністю ознак і проявляється в першу чергу астено-вегетативним синдромом. Ретельно представлена лабораторна діагностика хронічної ВЕБ інфекції: активну персистенцію ВЕБ оцінювали на підставі виявлення ДНК ВЕБ в

сироватці крові та слині кількісним та якісним методом ПЛР, хронічний перебіг хвороби встановлювали за визначенням впродовж 6 місяців і довше підвищення рівня IgG до ядерного антигену ВЕБ і рівня IgG до ранніх антигенів. Коректно підібрано для дослідження і описано всі клінічні і лабораторні використані методи обстеження і схему комплексної терапії перед ревакцинацією хворих. Представлені статистичні методи обробки отриманих даних, які були використані при виконанні дисертаційної роботи.

В *третьому розділі* наводяться дані щодо власних спостережень, подані результати визначення і порівняння напруженості специфічного імунітету (концентрації специфічних антитіл) до кору, краснухи та епідемічного паротиту у 6-7-річних дітей з ХВЕБІ та у здорових дітей того ж віку перед ревакцинацією. Здобувачем встановлено високий відсоток пацієнтів з ХВЕБІ, які на час ревакцинації не мають захисного рівня специфічних імуноглобулінів до досліджуваних керованих інфекцій. За вивчення загального імунного статусу хворих на ХВЕБІ, у яких був відсутній захисний імунітет до інфекцій перед ревакцинацією, дисертантом було визначено, що пов'язаними з цим імунологічними факторами виявились зниження кількості лімфоцитів $CD4^{+}$ -, активованих $CD25^{+}CD4^{+}$ -, Т-цитотоксичних ($CD8^{+}CD11b^{-}$)- $Th1(ИФ\gamma^{+})$ -субпопуляцій, підвищення концентрації $CD8^{+}CD11b^{+}$ -клітин, зменшення проліферативної активності лімфоцитів, низька поглинальна, біоцидна та метаболічна активність фагоцитів крові, зростання вмісту прозапальних цитокінів ($IL-1\beta$, $IL-2$, $TNF\alpha$) у сироватці поряд з недостатністю продукції $IL-4$, слабким потенціалом мононуклеарів крові до продукції $IFN\alpha$, $TNF\alpha$, $IL-4$, $IL-10$. Дисертантом висновлено, що сукупність означених імунологічних показників може застосовуватися, як прогностична ознака нездатності формування напруженого і довготривалого специфічного вакцинного імунітету у хворих дітей з ХВЕБІ.

В *четвертому розділі* дисертації чітко охарактеризовані характер і динаміка формування і збереження специфічного вакцинального імунітету до кору, краснухи та епідемічного паротиту разом із станом загального

імунітету хворих з ХВЕБІ за 1 місяць, 6 місяців та 1 рік після імунізації проти КПК вакциною Приорікс. Дослідження були проведені пошукувачем у групах дітей з ХВЕБІ, які не мали захисного рівня специфічних антитіл до ревакцинації, а також у хворих з напруженим імунітетом проти означених інфекцій. Третю, контрольну, групу склали клінічно здорові діти того ж віку. Дисертантом показано, що нездатність до формування стійкого специфічного імунітету у дітей з ХЕБВ пов'язані з дисбалансом у цитокіновій мережі, порушенням механізмів цитокінової регуляції імунних процесів (недостатньою продукцією ІЛ-2, ІЛ-15, ІЛ-21), неефективним функціонуванням фагоцитарної ланки імунітету, яка не забезпечує повноцінне презентування АГ для імунної відповіді, недостатністю продукції як центральних ($CCR7^+ CD45RA^-$), так і ефektorних ($CCR7^- CD45RA^-$, $CCR7^- CD45RA^+$) клітин пам'яті.

У *п'ятому розділі* дисертації обґрунтовано застосування передвакцинальної терапії противірусного, імунорегуляторного і клітинно-метаболического спрямування за допомогою препаратів інозину пранобекс (Нормомед), ІФН α -2b (Віферон), екстрактів *Deschampsia caespitosa* L. та *Calamagrostis epigeios* L. (Протефлазид), цитруліну малат (Стимол). Запропонована комплексна терапія сприяла нормалізації імунних показників і цитокінового профілю перед ревакцинацією, що забезпечило формування ефективного захисного імунітету проти кру, краснухи та епідемічного паротиту.

У розділі *«Аналіз та узагальнення результатів досліджень»* підведені підсумки проведеного дослідження з ретельним зіставленням отриманих результатів з даними літератури.

Висновки та практичні рекомендації логічно впливають з результатів роботи, відповідають її меті та задачам.

Список літератури складається із достатньої кількості джерел, опублікованих переважно в останні роки.

Робота містить інформативні таблиці та добре ілюстрована.

Наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані в дисертації, повністю викладені і опубліковані в працях. Матеріали дисертації доповідалися та обговорювалися на численних вітчизняних і зарубіжних наукових форумах.

Текст автореферату відповідає змісту дисертації.

Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових виданнях

Результати дисертаційної роботи відображено в повному обсязі та опубліковано у 15 наукових праць, серед яких 2 монографії, 4 статті: 2 статті - у провідних наукових фахових виданнях, які затверджені МОН України, 2 статті включено до міжнародних наукометричних баз, 2 статті – у міжнародному виданні. Автором отримано 1 патент України на корисну модель. Результати дисертації обговорювалися на державних та міжнародних науково-практичних конференціях (8 тез доповідей).

Зауваження і запитання

Принципових зауважень щодо роботи Кучми М.В. немає, окрім несуттєвих недоліків, які не зменшують загальної високої оцінки роботи:

1. Огляд літератури занадто розлогий і деталізований.
2. Мають місце деякі стилістичні помилки і неточності. Деякі таблиці було б наглядніше надати у якості рисунків.

У форматі дискусії бажано було б отримати пояснення автора на наступні запитання:

1. Чи асоціюється ступінь змін показників загального імунітету з клінічними проявами, скаргами і частотою епізодів інфекційних захворювань у дітей з хронічною ВЕБ інфекцією?
2. Як довго підтримується нормальний стан показників загального імунітету після впливу передвакцинальної комплексної терапії ?
3. Чи може впливати застосування комплексу препаратів противірусної і імуномодулюючої дії на формування і більш тривале збереження напруженого імунітету до бактеріальних інфекцій?

Висновок

Дисертаційна робота Кучми М.В. на тему: **«Особливості вакцинального імунітету і способи підвищення ефективності противірусних щеплень у дітей з хронічною ВСБ-інфекцією»**, яку подано на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, є завершеною науково-дослідною роботою, у якій отримано нові науково обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують важливе наукове завдання імунології та алергології – означення основних факторів формування напруженого та довгострокового специфічного імунітету та підвищення ефективності вакцинації проти кору, епідемічного паротиту та краснухи (КПК) у дітей з ХВЕБІ.

Дисертація за обсягом проведених досліджень, інформативністю використаних методів, актуальністю та методичним рівнем, науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю цілком відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 із змінами та наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

Професор кафедри клінічної,
лабораторної імунології та алергології
Національної медичної академії післядипломної
освіти імені П.Л.Шупика МОЗ України,
доктор медичних наук, доцент

Ю.А. Бісюк

