

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора кафедри гігієни, епідеміології та професійних хвороб Харківської медичної академії післядипломної освіти Карабана Олега Михайловича на дисертаційну роботу Кучми Максима Вячеславовича **“Особливості вакцинального імунітету і способи підвищення ефективності противірусних щеплень у дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією”**, подану у спеціалізовану вчену раду Д 64.61.618.01 при

ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України” на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія

Актуальність обраної теми. Дисертаційна робота Кучми М.В. на тему: “Особливості вакцинального імунітету і способи підвищення ефективності противірусних щеплень у дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією” присвячена актуальному завданню клінічної імунології – винайдення терапевтичних підходів до підвищення ефективності щеплення та стійкості вакцинального противірусного імунітету (зокрема проти кору) у дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією і надасть безсумнівну соціально-економічну вигоду шляхом подолання розповсюдження інфекційних хвороб серед населення України.

Актуальність зазначеного напрямку досліджень обумовлена низкою нагальних епідемічних та клінічних питань, що потребують поглибленого розгляду. Зокрема, факт широкої розповсюженості ВЕБ (імунотропного вірусу герпеса 4 типу людини) серед населення, факт різноманітності клінічних форм захворювань, що ним спричинюється, а також не з'ясовані особливості формування специфічного імунного захисту організму дитини на тлі ВЕБ-інфекції надають обраній для даного дисертаційного дослідження темі виняткової актуальності.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційна робота виконана в рамках 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. Дисертантом проведено дослідження специфічного гуморального імунітету до кору, паротиту та краснухи; стану загального (клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланки) імунітету та цитокінового статусу 6 – 7 річних дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією, запропоновано передвакцинальну корекцію дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією (ХВЕБІ) для підвищення ефективності вакцинації проти кору, паротиту та краснухи.

Таким чином, тема дисертаційної роботи Кучми М. В. “ Особливості вакцинального імунітету і способи підвищення ефективності противірусних щеплень у дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією” є актуальною для клінічної імунології та цілком відповідає пріоритетному напрямку розвитку науки і техніки на період до 2020 року “Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань” згідно Закону України № 2519-VI від 09.09.2010 р. “Про внесення змін до Закону України “Про пріоритетні напрями розвитку науки і техніки”.

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.

Дисертантом вперше проведено комплексне імунологічне дослідження стану та напруженості специфічного імунітету до кору, паротиту, краснухи (КПК), а також перебігу вакцинального процесу у дітей старшого дошкільного віку з ХВЕБІ. Вперше визначено взаємозв'язок між окремими

показниками загального імунітету та станом специфічного імунітету до КПК у дітей з ХВЕБІ. Доведено, що слабка імунна відповідь на щеплення проти КПК у цих дітей пов'язана з дисбалансом субпопуляційного складу лімфоцитів, зниженням загальної кількості $CD4^+$ -, активованих клітин - $CD25^+CD4^+$ -, цитотоксичних - $CD8^+CD11b^-$, Th1 типу, збільшенням супресорних $CD8^+CD11b^+$ -клітин, зниженням проліферативної здатності лімфоцитів, низькою поглинальною, біоцидною та метаболічною активністю лейкоцитів. Автором 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 β , IL-2, TNF α ; недостатність продукції IFN α та IL-4 - який необхідний для розвитку специфічної гуморальної відповіді. Виявлено виснаження функціональних резервів мононуклеарів у дітей з ХВЕБІ - спонтанна та індукована продукція IL-4 та індукована продукція TNF α , IFN α , IL-10 поступалася аналогічним показникам здорових дітей. Вперше встановлено, що для дітей з ХВЕБІ властиво зниження концентрацій IL-15 та IL-21 цитокінів, які необхідні для формування імунологічної пам'яті, зниження утворення В- та Т-клітин пам'яті під час формування вакцинального імунітету, як центральних (ТСМ), так і ефektorних (ТЕМ, ТЕМРА).

На основі даних, що були отримані в ході клінічних обстежень та лабораторних досліджень в рамках дисертаційної роботи, вирішено важливе науково-практичне завдання шляхом розробки нових підходів до підвищення ефективності формування напруженого стійкого специфічного імунітету за вакцинації проти кору, паротиту краснухи дітей із ХВЕБІ. Дане завдання вирішено застосуванням передвакцинальної комплексної терапії, що поєднує

препарати протівірусної, імуномодулюючої та дезінтоксикаційної дії, яка включає інозин пранобекс (Нормомед), рекомбінантний IFN α -2b (Віферон), спиртовий екстракт *Deschampsia caespitosa* L. та *Calamagrostis epigeios* L. (Протефлазид), цитруліну малат (СтімоЛ), в комплексній корекції імунних порушень у дітей, хворих на ХВЕБІ. Вперше показано, що вказана комбінація лікувальних засобів справляє статистично підтверджений стимулюючий вплив на формування специфічного довготривалого поствакцинального імунітету у дітей із ХВЕБІ.

Повнота викладення сформованих у дисертації наукових положень, висновків і рекомендацій в опублікованих працях та авторефераті

Результати досліджень, основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації, що висвітлюють основні аспекти кандидатської дисертації Кучми М.В. оприлюднені і обговорені на науково-практичних конференціях, конгресах та пленумах. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць (2 одноосібно), з них 2 монографії, 4 статті (2 - у наукових виданнях України, 2 – у міжнародних виданнях, 2 – включено до наукометричних баз), 1 патент України на корисну модель; 8 тез доповідей на наукових конференціях, конгресах та пленумах. У матеріалах дисертації після викладання наукових результатів кожного її розділу автором представлено перелік власних робіт, в яких ці результати опубліковано. Автореферат дисертаційної роботи Кучми М.В. викладено за загальноприйнятою формою на 24 сторінках машинописного тексту. Автореферат складається із загальної характеристики дисертаційної роботи, основних положень змісту кожного її розділу з результатами досліджень та їх аналізом, висновків, практичних рекомендацій, списку опублікованих праць, анотації українською, російською та англійською мовами. Матеріали

автореферату є ідентичними дисертації, досить ґрунтовано розкривають основні її положення і дозволяють сформулювати повне уявлення про дисертаційну роботу в цілому. Вищенаведене дозволяє визначити, що опубліковані праці автора та автореферат повною мірою розкривають основні наукові положення, висновки і рекомендації дисертаційної роботи.

Структура, зміст і завершеність дисертаційної роботи

Дисертаційна робота Кучми М.В. викладена за загальноприйнятою формою і включає анотацію, вступ, огляд літератури, об'єкт та методи дослідження, три розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки і практичні рекомендації. Список використаних джерел містить 165 посилань, в тому числі 80 кирилицею і 85 латиницею. Матеріали дисертації ілюстровані таблицями в достатньому обсязі. У вступі лаконічно і переконливо обґрунтовано актуальність для медичної галузі вирішення задачі підвищення ефективності вакцинопрофілактики дітей з ХВЕБІ та винайдення терапевтичних підходів до подовження в них тривалості захисного рівня специфічного вакцинального імунітету до керованих інфекцій.

Висвітлено зв'язок роботи з науковими програмами, сформульовано мету, визначено завдання дослідження для її досягнення, окреслено об'єкт та предмет дослідження, розкрито наукову новизну, теоретичне та практичне значення отриманих результатів, наведено дані щодо обсягу та структури дисертації.

Розділ 1 «Огляд літератури» складається з 6 підрозділів. У ньому дисертантом досить глибоко і критично проаналізовано сучасний стан знань щодо епідеміологічних, патогенетичних та клінічних характеристик інфекції, спричиненої ВЕБ (особливо її хронічних форм), проблем

вакцинопрофілактики дитячих інфекцій у дітей та шляхів їх подолання, проаналізовано існуючі схеми та підходи до лікування ВЕБ-інфекції.

У розділі 2 «Об'єкт та методи дослідження» детально представлена загальна характеристика груп хворих, дизайн дослідження, критерії постановки діагнозу, загальноклінічні (обстеження дітей з ХВЕБІ), імунологічні (вивчення специфічного гуморального та загального (клітинного, гуморального, фагоцитарного імунітету, цитокінового статусу), цитологічні та культуральні (визначення проліферативної активності лімфоцитів та цитокін-продукуючого потенціалу моноклеарів у культурі *in vitro*), молекулярно-генетичні (визначення ДНК ВЕБ), статистичні.

Методи, що використані автором у дослідженні, є коректними, сучасними, високоінформативними й адекватними щодо мети та завдань дослідження. Отримані результати оброблені за допомогою сучасних методів статистики, які обґрунтовують вірогідність отриманих результатів та висновків.

Розділ 3 «Стан специфічного, загального імунітету і цитокінової регуляції у дітей з ХВЕБІ перед ревакцинацією КПК» представлений дослідженням рівня специфічних антитіл до кору, краснухи і паротиту у дітей з ХВЕБІ 6-7 років перед ревакцинацією. Автором встановлено, що значний відсоток раніше вакцинованих дітей з ХВЕБІ на час ревакцинації не мають у сироватці крові антитіл до цих інфекцій у захисних рівнях: 46 % – до кору; 52 % – до краснухи; 58 % – до епідемічного паротиту, а переважна більшість дітей, у яких присутні антитіла у захисних рівнях, містять їх у мінімальних значеннях. Детальне вивчення загального імунітету частини дітей з ХВЕБІ (у яких був відсутній специфічний захист) показало, що він характеризується зниженням загальної кількості Т-хелперів (CD4⁺), активованих Т-хелперів (CD25⁺CD4⁺), Th1(ІНФγ⁺), Т-цитотоксичних

(CD8⁺CD11b⁻), підвищенням чисельності супресорних клітин CD8⁺ CD11b⁺, зменшенням проліферативної активності лімфоцитів, низькою поглинальною, біоцидною та метаболічною активністю лейкоцитів крові, зростанням вмісту прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-2, TNF α у сироватці крові та недостатністю продукції IL-4, слабким потенціалом мононуклеарів крові до продукції IFN α , TNF α , IL-4, IL-10. Дисертант зазначив, що визначення комплексу означених змін імунологічних параметрів може слугувати прогностичною ознакою відсутності напруженого, тривалого специфічного імунітету у хворих з ХВЕБІ після ревакцинації.

Розділ 4 «Характер змін у субпопуляціях лімфоцитів та цитокіновому статусі дітей з ХВЕБІ у поствакцинальному періоді» містить динаміку на протязі 1 року рівней специфічних IgG в відповідь на ревакцинацію вакциною Приорикс а також зміни імунологічних показників у дітей з ХВЕБІ які не мали захисного титру специфічних антитіл перед ревакцинацією в порівнянні з тими дітьми з ХВЕБІ, які мали напружений специфічний імунітет та здоровими. Дисертантом встановлено, що суттєві відмінності процесу формування стійкого специфічного імунітету у дітей, хворих на ХВЕБІ, пов'язані з дисбалансом у цитокіновій мережі, порушенням механізмів цитокінової регуляції імунних процесів, недостатньою продукцією IL-15 та IL-21, неефективним функціонуванням фагоцитарної ланки імунітету (низькою поглинальною та травною здатністю фагоцитів), яка не забезпечує повноцінне презентування антигенів для імунної відповіді, недостатністю продукції як центральних (CD22⁺ CD27⁺, CCR7⁺ CD45RA⁻), так і ефektorних (CCR7⁻ CD45RA⁻, CCR7⁻ CD45RA⁺) клітин пам'яті.

У Розділі 5 «Підходи до підвищення ефективності противірусного щеплення дітей з хронічною ВЕБ інфекцією» пошукувачем обґрунтовано

застосування комплексної передвакцинальної терапії для дітей з ХВЕБІ з метою підвищення їх здатності до формування довготривалого напруженого специфічного імунітету до кору, краснухи та епідемічного паротиту. Запропонована терапія препаратами противірусної і одночасно імуномодельючої дії нормомед (інозин пранобекс), віферон (рекомбінантний IFN α -2b), протеплазид (екстракт рослин *Deschampsia caespitosa* L., *Calamagrostis epigeios* L.) разом з клітинно-метаболічним препаратом цитруліна малатом (стимол). Дисертантом доведено, що вакцинація дітей з ХВЕБІ на тлі проведення комплексної передвакцинальної терапії приводить до підвищення рівня продукції специфічних антитіл до значень здорових осіб того ж віку, подовжує термін їх перебування у сироватці крові ($p < 0,05$). Щеплення дітей з ХВЕБІ на фоні комплексної передвакцинальної терапії, у порівнянні з дітьми з ХВЕБІ, які не отримували передвакцинальної лікарської підготовки, супроводжується нормалізацією популяційної та субпопуляційної кількості лімфоцитів, збільшенням активованих лімфоцитів CD25⁺CD4⁺, зменшенням Т-супресорів - CD8⁺ CD11b⁺, інтенсифікацією проліферативної активності лімфоцитів, достовірним посиленням поглинальної та біоцидної здатності лейкоцитів; нормалізує співвідношення у цитокіновій мережі, стимулює синтез IFN α , IL-4, підвищення продукції IL-15 та IL-21 та накопичення ТСМ- та ВМ-клітин імунологічної пам'яті.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» містить ретельний аналіз результатів проведеного дослідження і даних літератури. Дисертантом проведено детальне співставлення власних результатів дослідження з даними інших науковців. За результатами аналізу та узагальнення даних своїх досліджень, автор формулює основні положення дисертаційної роботи щодо передвакцинальної медикаментозної корекції порушень імунітету, які

перешкоджають формуванню повноцінного стійкого специфічного імунітету до краснухи, кору і паротиту у дітей з ХВЕБІ.

Висновки включають стисле формулювання здобувачем наукових узагальнень, які в сукупності повною мірою відображають теоретичні та практичні результати роботи і вирішення завдання щодо підвищення ефективності вакцинопрофілактики дітей з ХВЕБІ шляхом розробки комплексної противірусної, імуномоделюючої та клітинно-метаболическої терапії, яка повинна застосовуватись для передвакцинальної підготовки хворих. Висновки сформульовано чітко і зрозуміло, їх послідовність та зміст логічно відображає завершеність дисертаційної роботи.

Зауваження щодо змісту дисертації і запитання до здобувача.

Принципових зауважень щодо змісту дисертаційної роботи або отриманих результатів немає. Звертає увагу необов'язкове занадто детальне подання опису деяких методів дослідження.

Запитання до дисертанта:

1. Виявлення яких змін в загальному імунному статусі хворих на хронічну ВЕБ інфекцію стало підґрунтям для застосування препарату стимул (малат цитруліну)?
2. Якими змінами може бути обумовлена активація ВЕБ у хворих на хронічну форму дітей, яка викликає реактивацію захворювання?
3. Яка роль відводиться в загальному імунітеті Toll-рецепторам?
4. Як часто у вашій практиці використовуються молекулярно-генетичні методи вивчення ДНК ВЕБ?

Висновок щодо відповідності дисертаційної роботи встановленим вимогам

Дисертаційна робота Кучми Максима Вячеславовича «Особливості вакцинального імунітету і способи підвищення ефективності противірусних

щеплень у дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією», подана до захисту до спеціалізованої вченої ради Д.64.61.618.01 при ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук є самостійною завершеною науково-дослідною працею та містить наукові положення та науково обґрунтовані результати.

Дисертаційна робота Кучми М.В. за актуальністю, науковою новизною є такою, що відповідає вимогам щодо кандидатських дисертацій, які визначено в п.11-13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. №567 (із змінами, внесеними згідно 19.08.2015 р. №656, від 30.12.2015 р. №1159, від 27.07.2016 р. №657) на наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а її автор – Кучма Максим Вячеславович заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

Завідувач кафедри гігієни, епідеміології
та професійних хвороб Харківської
медичної академії післядипломної
освіти МОЗ України,
доктор медичних наук, професор



Карaban O.M.