

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Чернуського В. Г. на дисертаційну роботу Назаренка Олександра Павловича "Ефективність застосування ронколейкіну в корекції імунних розладів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень", подану до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.618.01 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

У зв'язку з різким погіршенням екологічного стану, високим рівнем забруднення як у великих містах, так і населених пунктах, зниженням імунологічних факторів захисту населення різних вікових груп, а також високого рівня зростання шкідливих звичок (таких як тютюнопаління з високим вмістом токсичних речовин, вживання наркотиків тощо), що призводить до виснаження як неспецифічних, так і специфічних факторів імунітету людини, а також до підвищення мутацій, які сприяють формуванню виснаження різних ланок імунітету, що формує декретивну групу населення по розвитку, особливо у осіб старше 45 років. Неспроможність переробки та елімінації різного роду антигенного потенціалу призводить спочатку до стимуляції імунокомпетентних клітин, викиду біологічно активних речовин, медіаторів запалення, дисбалансу протеаз та антипротеаз, проліферативних процесів, апоптозу клітин, а потім до їх виснаження. Все це провокує як розвиток, так і прогресування хронічного запального процесу бронхолегеневої системи. На цьому тлі створюються умови до колонізації умовно патогенної, патогенної мікрофлори та різних типів грибів. Тому вивчення процесів формування дисбалансу в імунологічній системі хворих на ХОЗЛ та причин підвищення рівня антитіл класу IgE у сироватці крові, а також специфічних IgE є найбільш актуальною проблемою хронічної обструктивної патології бронхолегеневої системи. На сучасному етапі запропоновані та затверджені протоколи МОЗ України щодо лікування ХОЗЛ не в повній мірі сприяють розвитку стійкої клінічної ремісії у конкретного хворого. Тому розробка імунокоректорів на різних етапах перебігу ХОЗЛ дозволяє індивідуалізувати проведення терапії хворих на ХОЗЛ, що є найбільш актуальним напрямом у лікуванні таких хворих.

Зв'язок наукової роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана в рамках наукової діяльності кафедри клінічної, лабораторної імунології та алергології НМАПО імені П.Л.Шупика: "Вивчення порушень імунного статусу з урахуванням факторів кооперації у алергологічних хворих, та розробка специфічної і неспецифічної імуномодуляції в комплексній терапії", № держреєстрації 0105U003862.

Ступінь достовірності та обґрунтованості положень, наукових висновків та рекомендацій

На достатньому фактичному матеріалі проведено обґрунтування наукових положень, висновків та практичних рекомендацій. У роботі застосовані сучасні методи досліджень, які дозволили вирішити поставлені завдання.

Для верифікації діагнозу ХОЗЛ дисертантом використовувалися загальноклінічні дослідження: загальний аналіз крові, сечі, мокроти. Дослідження проводилися за загальноприйнятими стандартами. Загальний аналіз крові проводили на гематологічному аналізаторі "Abacus Junior B" (Австрія). Загальний аналіз мокроти проводилися на люмінесцентному мікроскопі "Olympus" CX 41 (Японія). Дослідження функції зовнішнього дихання проводилося за допомогою спірографії на апараті Спірограф «Microlab» № 43043 (Micro Medical Limited, Англія). Для оцінки оборотності бронхообструкції проводилася фармакопроба з β_2 -агоністом короткої дії сальбутамолом (через 30 хвилин після вдихання 200 мкг препарату).

Сучасні методи дослідження - молекулярна алергодіагностика з використанням *Alternaria alternata* та стафілококового ентеротоксину за допомогою методу імунофлюоресцентного аналізу ImmunoCAP. Проводилося визначення специфічних антитіл класу IgE, а також еозинофільного катіонного протеїну. Фенотипування лімфоцитів проводили за допомогою методу проточної цитометрії.

Рівень циркулюючих імунних комплексів низьких, середніх і високих розмірів визначався за допомогою методу диференціальної преципітації у розчині поліетиленгліколю. Залежно від концентрації ПЕГ (3%, 4,5%, 6%) визначалися ЦК з різною молекулярною масою (відповідно високо-, середньо- та низькомолекулярною).

Визначення цитокінів у сироватці крові проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА) згідно інструкції.

Фагоцитарну активність клітин визначали цитологічним методом з використанням люмінесцентного мікроскопу "Olympus" CX 41 (Японія).

Наукова новизна та практична значущість отриманих результатів

У роботі вперше показано, що на тлі неспецифічних та специфічних розладів імунітету у 48,0 % хворих на ХОЗЛ II ступеня та 52,3 % хворих на ХОЗЛ III ступеня тяжкості спостерігається сенсibiliзація до грибкових та бактерійних алергенів. У цих хворих патогенетично обґрунтовано застосування неспецифічного імуномодулятора Ронколейкіну та АСІТ з метою корекції імунних порушень, які спостерігаються у хворих на ХОЗЛ II та III ступенів тяжкості із сенсibiliзацією до грибів та бактеріальних алергенів, що дало змогу індивідуалізувати терапію даному контингенту хворих. АСІТ при ХОЗЛ із підвищеним вмістом IgE до *Alternaria alternata* проводилась вперше.

У роботі дисертант довів зрушення в окремих ланках імунітету (Т-клітинній, гуморальній, фагоцитарній та цитокіновій) у хворих на ХОЗЛ II та III ступенів тяжкості із підвищеним вмістом загального та специфічних IgE.

Проведеними дослідженнями вперше дисертант показав, що у цих хворих порушена здатність розвивати повноцінну Т-клітинну імунну відповідь завдяки пригніченню продукції ІЛ-2 та ІНФ γ , експресії на CD4+-клітинах CD28, порушенню співвідношення Th1/Th2-клітини, зниження проліферативної здатності Т-лімфоцитів. Доведено, що у хворих на ХОЗЛ пригнічений як місцевий, так і загальний імунітет. У хворих знижений вміст у секреті бронхів sIgA та в сироватці крові mIgA, у цих пацієнтів підвищений у крові рівень низько- та середньомолекулярних ЦІК, пригнічена фагоцитарна здатність лейкоцитів крові.

Показано, що застосування у комплексній терапії хворих на ХОЗЛ Ронколейкіну дозволяє підвищити проліферативну здатність Т-лімфоцитів, відновити відношення Th1/Th2-клітин, підвищити фагоцитарну активність клітин, знизити рівень ЦІК у крові, підвищити у секреті бронхів sIgA, у сироватці крові mIgA. Під впливом Ронколейкіну у хворих на ХОЗЛ знижується рівень у крові прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ФНП α), відновлюється баланс про- і протизапальних цитокінів, підвищується продукція ІЛ-2.

З метою зниження загального та специфічного IgE у хворих на ХОЗЛ дисертантом застосовано АСІТ, що призводить до десенсибилізації.

Дисертант дослідив, що застосування у комплексній терапії Ронколейкіну та АСІТ, позитивно впливало на клінічний перебіг захворювання, попереджувало ризики загострення хвороби та її прогресування. У хворих відмічалось достовірне зниження частоти таких симптомів як задишка, кашель та кількість мокроти. У пацієнтів

спостерігалось підвищення якості життя за шкалами «симптоми», «рухова активність», «психосоціальна адаптація».

Отримані дані дали змогу обґрунтувати комплексну оцінку імунного статусу хворих на ХОЗЛ, що дало можливість виявляти на ранніх стадіях ХОЗЛ характер та ступінь порушень імунної системи пацієнтів.

Включення Ронколейкіну до комплексної терапії хворих на ХОЗЛ дозволяє значно підвищити ефективність базисної терапії, запобігати прогресуванню захворювання та його загострення.

Підвищення загального та специфічного Ig E до мажорних та мінорних грибкових та бактеріальних алергенів є підґрунтям до застосування АСІТ у хворих на ХОЗЛ.

Дослідженнями показано, що у план обстеження хворих на ХОЗЛ необхідно включати визначення загального та специфічних Ig E антитіл до бактеріальних та грибкових алергенів у сироватці крові для прийняття рішення про тактику комплексної терапії при загостренні захворювання або у випадках, коли проведене лікування не набуває очікуваних результатів.

Результати досліджень впроваджено у наступних медичних закладах: ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України» (акт впровадження від 22 січня 2019 р.); ТОВ «Клініка імунології та алергології «Форпост»» (акт впровадження від 8 грудня 2017 р.); алергологічному відділенні № 1 Київської міської клінічної лікарні № 8 (акт впровадження від 16 жовтня 2018 р.); Громадська спілка «Українська школа молекулярної алергології та імунології» (акт впровадження від 6 лютого 2018 р.); кафедрі клінічної, лабораторної імунології та алергології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України (акт впровадження від 29 вересня 2017 р.).

Повнота викладу в опублікованих працях

За матеріалами дисертації опубліковано 24 наукових праць (10 одноосібно), з них 11 статей (9 – у фахових виданнях України, 1 - у міжнародному виданні, 1 – включена до наукометричних баз), 1 методичні рекомендації, 12 тез у матеріалах міжнародних конференцій та конгресів.

Характеристика роботи та її розділів

Назва дисертації відповідає суті змісту; дисертація побудована та викладена традиційно згідно вимогам МОН України. Дисертація викладена на 176 сторінках машинопису. Список використаних джерел складають 247 роботи. Матеріали дисертації ілюстровані 52 таблицями та 4 рисунками.

Огляд літератури написаний детально, послідовно, побудований на підставі нових літературних джерел, присвячений сучасним уявленням про етіопатогенез ХОЗЛ, клініку та напрями лікування. Значна увага приділяється характеру імунних розладів у пацієнтів із ХОЗЛ. Використана достатня кількість публікацій.

Матеріали та методи дослідження наведені докладно і дають змогу відтворити хід дослідження. Методи, що використані автором, сучасні, високоінформативні й адекватні поставленій меті та задачам дослідження. Отримані результати оброблено за допомогою сучасних методів статистики, які обґрунтовують вірогідність отриманих результатів та висновків.

Результати досліджень висвітлені в п'ятьох розділах, що складаються з підрозділів, присвячені власним дослідженням, містять повний та послідовний опис отриманих результатів, ілюстровані таблицями, рисунками, достатньо аргументовані, не викликають сумніву.

У розділі 3 автором встановлено, що у пацієнтів із ХОЗЛ клінічні симптоми відрізнялися в залежності від тяжкості перебігу захворювання. Автором показано, що найчастіші симптоми у пацієнтів із ХОЗЛ проявлялися зі сторони бронхолегеневої системи: ядухою, слабкістю, запамороченням та швидкою втомою. Також були виявлені особливості сенсibilізації хворих до грибкових та бактеріальних алергенів.

У розділі 4 автором детально представлено характер імунних розладів у хворих на ХОЗЛ II та III ступенів тяжкості, сенсibilізованих до грибкових та бактеріальних алергенів.

Розділ 5 присвячено впливу Ронколейкіну та АСІТ на імунний статус хворих на ХОЗЛ II та III ступенів тяжкості. Дисертантом було встановлено, що при застосування Ронколейкіну та АСІТ у хворих на кінець лікування спостерігалось підвищення у периферичній крові вмісту CD3⁺- клітин, CD4⁺- клітин, Th1-лімфоцитів, підвищення вмісту клітин експресуючих CD28, відновлення балансу між Th1 та Th2 – клітинами, зростання проліферативної здатності Т-лімфоцитів. У сироватці крові відбувалося підвищення рівня mIgA, у бронхіальному секреті sIgA та достовірне зниження у сироватці крові вмісту низькомолекулярних та середньомолекулярних ЦІК

У шостому розділі дисертантом показаний вплив Ронколейкіну та АСІТ на рівень сенсibilізації до *A.alternata* та стафілококових ентеротоксинів у хворих на ХОЗЛ II та III ступенів тяжкості.

Під впливом запропонованої терапії в обох групах хворих відбувалося підвищення ФІ, ФЧ, числа активних фагоцитів та нормалізація їх кисневого метаболізму.

У цитокіновій мережі під впливом Ронколейкіну та Ронколейкіну з АСІТ у групах 1 та 2 спостерігалось зниження у сироватці крові прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ФНПа), нормалізація співвідношення ІЛ-4/ІНФ γ , підвищення концентрації ІЛ-2 до значень здорових осіб.

У пацієнтів з ХОЗЛ II та III ступенів тяжкості, які отримували тільки базисну терапію, таких змін в імунному статусі не відбувалось.

У сьомому розділі дисертант показав вплив Ронколейкіну на клінічний перебіг ХОЗЛ II та III ступенів тяжкості. Встановив, що у пацієнтів цих груп на кінець лікування спостерігалось покращення таких показників захворювання як задишка, кашель, кількість відокремлюваного мокротиння тощо. Покращення цих показників супроводжувалось вірогідним підвищенням «якості життя» за шкалою «симптоми», «рухова активність», «психосоціальна адаптація», які були оцінені за шкалою SGRO.

Аналіз та обговорення результатів побудовано як наведення власних результатів, попередніх висновків і інтерпретацією на підставі ґрунтовних та нових даних літератури.

Оцінка мови та стилю дисертації. Дисертація та автореферат написані грамотно, стиль викладу матеріалів досліджень, наукових положень, висновків і рекомендацій чіткий, логічний, що забезпечує легкість і доступність їх сприйняття.

Висновки відповідають меті та поставленим у роботі задачам.

Слід зазначити деякі зауваження до дисертації:

Мають місце деякі стилістичні помилки й неточності. Деякі таблиці було б краще надати як діаграми.

Розділ аналізу та узагальнення результатів дослідження може бути розширений за рахунок порівнянні з даними літератури.

Але ці зауваження не носять принципового характеру та не вплинули на наукову та практичну цінність дисертації і на її позитивну оцінку.

При роботі з дисертацією виникли наступні запитання, на які бажано було б отримати відповіді:

1. Скажіть, будь ласка, які Ви використовували антигени до *A.alternata* та стафілококового ентеротоксину, були вони офіційно стандартизовані за білком та чи є дозвіл МОЗ України на їх використання?

2. Чи є різниця механізму імунної відповіді при сенсibiliзації до *A.alternata* та сенсibiliзації до стафілококових ентеротоксинів A-SEA та B-SEB у хворих на ХОЗЛ?

3. Зміни яких імунних показників характеризують нормалізацію імунної відповіді при комплексному застосуванні Ронколейкіну та АСІТ у хворих на ХОЗЛ II та III ступенів тяжкості ?

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам:

Дисертаційна робота Назаренка Олександра Павловича "Ефективність застосування ронколейкіну в корекції імунних розладів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень", що представлена до захисту в 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, є самостійною завершеною науково-дослідницькою працею та містить наукові положення та науково обґрунтовані результати.

Дисертаційна робота Назаренка О.П. за актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, теоретичною та практичною цінністю є такою, що цілком відповідає вимогам щодо кандидатських дисертацій, які визначено п. 11-13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567 (із змінами, внесеними згідно з постановою Кабінету Міністрів України від 19.08.2015 р. № 656, від 30.12.2015 р. № 1159, від 27.07.2016 р. № 657) та наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 року № 40 "Про затвердження вимог до оформлення дисертації", а її автор – Назаренко Олександр Павлович заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

Доктор медичних наук, професор,
провідний науковий співробітник
лабораторії протимікробних засобів
ДУ «Інститут мікробіології та імунології
ім. І. І. Мечникова Національної академії
медичних наук України»

В. Г. Чернуський

Підпис *Чернуською В.Г.*
ЗАСВІДЧУЮ:
Начальник відділу кадрів
ДУ "ІМІ НАМН"



Н.А.Белякова