

## **ВІДГУК**

### **офіційного опонента**

доктора медичних наук **Рекалової Олени Михайлівни**

на дисертацію **Назаренко Олександра Павловича**

**«Ефективність застосування ронколейкіну в корекції імунних розладів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень»,**

що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

**за спеціальністю 14.03.08 – імунологія і алергологія**

**Актуальність вибраної теми дисертації.** Актуальність теми дисертації обумовлена відсутністю чітких уявлень про причини прогресування важкого інвалідизуючого захворювання – хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ), поширеність якого в світі сягає 10 %, а серед всіх причин смерті – четверте місце. Це захворювання характеризується прогресуючим запальним процесом, що зачіпає всі структури легеневої тканини, приводячи до формування бронхіальної обструкції і емфіземи легенів, що супроводжується важкою дихальною недостатністю. Різні імунні клітини приймають безпосередню участь в руйнуванні легеневої тканини, але тип імунної відповіді залишається невизначеним при ХОЗЛ. Саме можливість впливу на різні ланки імунної системи для припинення патологічного процесу при ХОЗЛ є предметом сучасних досліджень науковців всього світу.

З іншого боку, відома велика роль мікробного фактора, зокрема – мікроорганізмів, які колонізують слизову дихальних шляхів таких хворих, в виникненні загострень та прогресуванні ХОЗЛ із зниженням легеневої функції. При цьому виразність та роль алергізуючого впливу бактерій та мікроміцетів у хворих на ХОЗЛ, їх можливі зміни під впливом неспецифічних імуномодуляторів та специфічної терапії залишаються мало вивченими.

У дисертаційній роботі О. П. Назаренко «Ефективність застосування ронколейкіну в корекції імунних розладів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень» було вивчено ефективність застосування неспецифічного імуномодулятора ронколейкіну, а також специфічної імунотерапії у корекції імунних порушень, які супроводжують розвиток та прогресування ХОЗЛ у хворих із сенсibiliзацією до грибів та бактеріальних алергенів.

Діючою речовиною ронколейкіну є рекомбінантний інтерлейкін-2 людини, який впливає на активацію, диференціювання імунних клітин, розвиток цитолітичної активності Т-лімфоцитів і натуральних кілерів, – що обумовлює видалення з організму різних патогенних мікроорганізмів, інфікованих клітин, завдяки чому забезпечується імунний захист проти збудників грибкової, бактеріальної інфекції. Препарат показаний при важких локалізованих та генералізованих інфекціях, туберкульозі легень, імунодефіцитних станах, онкологічних захворюваннях, опіках. У хворих на ХОЗЛ препарат не вивчався, але широко застосовується в ветеринарії при обструктивних захворюваннях легень у коней (А. Н. Моисеев и соавт., 2012).

Таким чином, питання доцільності введення в терапевтичний комплекс лікування хворих на ХОЗЛ неспецифічного імунокоректора ронколейкіну, а також специфічної імунотерапії з метою корекції імунних порушень, які супроводжують розвиток та прогресування ХОЗЛ у хворих із сенсibiliзацією до грибів та бактеріальних алергенів, – залишається недостатньо розробленим на сьогоднішній день і служить предметом цього дисертаційного дослідження, обґрунтовує його актуальність і доцільність для науки й імунології і алергології.

**Зв'язок теми роботи з державними чи галузевими науковими програмами.** Дисертаційне дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри клінічної, лабораторної імунології та алергології Національної медичної академії післядипломної освіти 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. Автором проведено дослідження пацієнтів та аналіз клінічних, алергологічних та імунологічних показників у хворих на ХОЗЛ.

**Наукова новизна і теоретичне значення дослідження та одержаних результатів.** У дисертаційній роботі доповнено наукові данні про стан імунітету у хворих на ХОЗЛ і показано, що у таких хворих спостерігається вторинна імунологічна недостатність (пригнічений як місцевий, так і загальний імунітет із зниженням вмісту IgA у секреті бронхів й в сироватці крові) з порушенням здатності Т-лімфоцитів розвивати повноцінну імунну відповідь на фоні пригнічення продукції ІЛ-2 та ІНФγ, із зниженням проліферативної активності Т-лімфоцитів (РБТЛ з ФГА), зменшенням кількості їх активованих форм (CD4+28+ клітин) та співвідношення Th1/Th2, з підвищенням в крові концентрацій низько- та середньо- молекулярних ЦК при пригніченні фагоцитарної здатності лейкоцитів крові.

На підставі використання сучасних методів молекулярної алергології вперше показано, що у половини хворих на ХОЗЛ (у 48 % хворих на ХОЗЛ II ступеня та 52 % хворих на ХОЗЛ III ступеня тяжкості) в крові визначається підвищений титр імуноглобулінів Е до грибкових (*Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Candida albicans*) та бактеріальних (стафілококових) антигенів, – що свідчить про наявність в них сенсibiliзації до деяких мікроміцетів та бактерій.

Виявлені імунологічні порушення (пригнічення Т-лімфоцитів із зниженням співвідношення Th1/Th2 з пригніченням продукції ІЛ-2 та ІНФγ) дають підставу для застосування в комплексній терапії хворих із загостренням ХОЗЛ імуномодулятора ронколейкіну (інтерлейкіну 2), який активізує протимікробну активність імунних клітин.

Доведено, що застосування у комплексній терапії хворих із загостренням ХОЗЛ ронколейкіну дозволяє підвищити ефективність їх

лікування, що проявляється через 1 місяць та через 6 місяців після лікування зменшенням (за показниками опитувальника SGRO) симптомів задишки, кашлю, кількості відокремлюваного мокротиння та підвищенням якості життя хворих (за шкалою «симптоми», «рухова активність», «психосоціальна адаптація»).

Клінічне покращення підтверджується позитивною динамікою імунологічних показників, які після застосування ронколейкіну у хворих на ХОЗЛ покращуються з відновленням проліферативної здатності Т-лімфоцитів, відношення Th1/Th2, підвищенням вмісту IgA у секреті бронхів й в сироватці крові, підвищенням фагоцитарної активності клітин, зниженням рівню ЦК та прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ФНПа) в крові.

Визначення сенсибілізації до мікроміцетів (із підвищеним вмістом IgE до *Alternaria alternata*) дозволило дисертанту вперше з лікувальною метою використати хворим на ХОЗЛ 8-місячний курс АСІТ до мажорного алергену Альтернатрії (*Alternaria* sp) Alt a 1, що призводить до підвищення ефективності терапії (з відсутністю загострень протягом року) зі зниженням рівня загального та специфічних Ig E в крові хворих до значень здорових осіб і супроводжується більш виразним позитивним змінам відношення Th1/Th2 та фагоцитарної активності клітин крові (порівняно с групою хворих, які не застосовують тільки ронколейкін).

**Практичне значення результатів дослідження.** Автором доведено доцільність введення в терапевтичний комплекс хворих із загостренням ХОЗЛ ронколейкіну на підставі аналізу імунологічних показників (з наявністю зниженого вмісту у периферичній крові CD3 $^{+}$  та CD4 $^{+}$ -лімфоцитів, низького потенціалу мононуклеарів до продукції ІЛ-2, низької проліферативної здатності Т-лімфоцитів, дисбалансу імунорегуляторних клітин, низької активності фагоцитарних клітин). Це дозволяє значно підвищити ефективність традиційної терапії з більш вираженим зменшенням симптомів захворювання та підвищенням якості життя хворих з позитивною динамікою імунологічних показників.

Автором встановлено, що у половини хворих на ХОЗЛ в крові визначається підвищений титр імуноглобулінів Е до грибкових (*Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Candida albicans*) та бактеріальних (стафілококових) антигенів, – що свідчить про наявність в них сенсibiliзації до деяких мікроміцетів та бактерій. Це обґрунтовує доцільність використання хворим на ХОЗЛ після курсу ронколейкіну 8-місячний курс АСІТ до мажорного алергену Альтернарії (*Alternaria sp*) Alt a 1 і призводить до підвищення ефективності терапії (з відсутністю загострень протягом року) зі зниженням рівня загального та специфічних Ig Е в крові та виразними позитивними змінами імунного статусу хворих.

**Ступінь обґрунтованості та достовірність положень, висновків і рекомендацій, які сформульовані в дисертації.** Дисертаційна робота Назаренко О. П. базується на використанні достатнього за обсягом матеріалу та дослідженнях, проведених із застосуванням високоінформативних сучасних методик.

Наукові положення, висновки, практичні рекомендації логічно випливають із результатів власних досліджень, є науково обґрунтованими та чітко сформульованими.

Завдяки застосуванню сучасних методів дослідження, нових та традиційних методів лікування, а також коректному використанню методів статистичного опрацювання матеріалу отримано вірогідні результати і ряд нових наукових фактів, що дозволило автору обґрунтувати положення висновків та практичних рекомендацій щодо впровадження отриманих результатів.

Висновки і практичні рекомендації відображають результати наукового дослідження.

**Повнота викладу матеріалів в опублікованих працях і авторефераті.** За темою дисертації опубліковано 24 наукових праці, з них 11 статей (у тому числі, 10 одноосібні, 9 у фахових виданнях України, 1 у міжнародному виданні, 1 включена до наукометричних баз), 1 методичні

рекомендації, 12 тез доповідей у матеріалах науково-практичних та міжнародних конференцій та конгресів. У вказаних наукових публікаціях повністю викладені результати дисертаційного дослідження, наукові положення, висновки та практичні рекомендації, які впливають із них.

**Рекомендації щодо використання результатів дисертації у практиці.** Отримані у даній дисертаційній роботі результати досліджень можуть бути використані у лікувальних закладах пульмонологічного, алергологічного профілю.

### **Обсяг та структура роботи**

Дисертаційна робота викладена в традиційному стилі на 176 сторінках, містить 52 таблиці, 3 рисунків, 247 літературних джерел ((137 кирилицею і 110 латиницею).

У вступі обґрунтовується актуальність дослідження, мета та завдання роботи, наукова новизна та практичне значення, декларується особистий внесок автора.

Розділ 1 «Етіологія, патогенез, класифікація, діагностика та лікування хронічного обструктивного захворювання легень (огляд літератури)», об'ємом у 18 сторінок, присвячений огляду літературних джерел і містить три підрозділи. Представлені сучасні погляди на етіологію, патогенез, класифікацію, діагностику та лікування ХОЗЛ (підрозділ 1.1), коротко описані аспекти клінічного використання імуномодуляторів при ХОЗЛ (підрозділ 1.2), проаналізовано сучасні погляди на патогенез захворювання та роль імунологічних змін при ХОЗЛ (підрозділ 1.3). Данні літературних джерел достатні, відповідають основним напрямкам імунології та алергології, задачам дослідження.

В розділі 2 «Матеріали і методи» описана загальна характеристика груп обстежуваних хворих, дизайн та методологія дослідження (2.1), з описанням інструментальних та лабораторних методів дослідження (2.2), а саме: загальноклінічних (2.2.1), дослідження функції зовнішнього дихання (2.2.2), методів вивчення популяційного та субпопуляційного складу лімфоцитів

периферичної крові (2.2.3), визначення проліферативної активності лімфоцитів у реакції бласттрансформації лімфоцитів (2.2.4), визначення загального рівня імуноглобулінів IgM, IgA, IgG, IgE у сироватці крові (2.2.5), визначення рівня секреторного IgA у секреті бронхів (2.2.6), визначення рівня ЦІК (низьких, середніх, високих мас) (2.2.7), вивчення фагоцитарної активності клітин крові (2.2.8), НСТ-тесту фагоцитів (2.2.9), визначення рівня цитокінів у сироватці крові (2.2.10), рівня еозинофільного катіонного білка (2.2.11), визначення рівня специфічних IgE до алергенів, пліснявих грибів, ентеротоксинів стафілококу (2.2.12), визначення рівня специфічних IgE до міксту респіраторних алергенів (2.2.13). Застосовані класичні імунологічні методи різнобічно характеризують обстежених хворих, дають можливість адекватно оцінювати зміни в їх стані під контролем застосованих методів. Методи молекулярної діагностики для визначення рівнів специфічних IgE з використанням імунофлюоресцентного аналізу є найсучаснішими, які широко застосовують у розвинутих країнах світу протягом останнього десятиріччя та визнані «золотим стандартом» у світі. Тому данні, які одержані при застосуванні їх у хворих на ХОЗЛ, є унікальними.

В розділі 2 представлено також характеристику неспецифічних та специфічних методів імунокорекції (2.3) із застосуванням ронколейкіну (2.3.1) та методу алергенспецифічної імунотерапії (АСІТ) (2.3.2). Коротко описані методи, які були використані при проведенні статистичного аналізу результатів обстеження хворих (підрозділ 2.4). Застосовані методи є сучасними, відповідають меті та завданням дослідження.

В розділі 3 надано результати вивчення профілю IgE-сенсibiliзації у хворих на ХОЗЛ, що проілюстровано трьома рисунками. Кількість обстежених хворих є достатньою для одержання статистично обґрунтованих висновків. Розподіл хворих проведений коректно, із дотриманням необхідних вимог, із урахуванням правил добору груп.

Розділ 4 присвячений дослідженням стану імунної системи та характеру імунних розладів у хворих на ХОЗЛ, сенсibiliзованих до грибів *A. alternata* та стафілококових ентеротоксинів, – числова характеристика яких

відображена в 11 таблицях. Показано, що у хворих на ХОЗЛ спостерігається дисбаланс серед імунорегуляторних клітин з порушеннями як Т-клітинної, гуморальної, так й фагоцитарної ланок імунітету, – що відповідає даним літературних джерел про імунологічні порушення у хворих на ХОЗЛ.

У розділі 5 представлені результати вивчення імунологічної ефективності застосованих автором терапевтичних методів (лікування ронколейкіном та ронколейкіном + АСІТ) у хворих на ХОЗЛ, що проілюстровано 24 таблицями. Охарактеризований вплив застосування ронколейкіну та ронколейкіну в комбінації з АСІТ на імунологічні показники хворих на ХОЗЛ, сенсibilізованих до грибів *A. alternata*, II ступеня (підрозділ 5.1) та III ступеня тяжкості (підрозділ 5.3), а також вплив ронколейкіну на імунологічні показники хворих на ХОЗЛ, сенсibilізованих до стафілококових ентеротоксинів, II ступеня (підрозділ 5.2) та III ступеня тяжкості (підрозділ 5.4). Динаміка показників до та після лікування порівнювалась з такою в групі хворих на ХОЗЛ, що не одержували імуномодулюючої терапії.

Одержані результати аналізу цифрових даних статистично підтверджені та дають змогу зробити висновок, що у пацієнтів при лікуванні ронколейкіном (незалежно від ступеня тяжкості ХОЗЛ та характеру сенсibilізації) відмічено більш виражений стимулюючий (позитивний) вплив на лімфоцитарні показники з нормалізацією їх субпопуляційного складу, функції фагоцитів крові, зростанням знижених секреторного та сироваткового рівней IgA, частковою нормалізацією цитокінового статусу, – порівняно з хворими на ХОЗЛ, що не одержували ронколейкіну. Додавання до лікування АСІТ практично не здійснювало додаткового позитивного впливу на ці показники, що свідчило про переважний вплив саме ронколейкіну на імунний статус хворих на ХОЗЛ.

В розділі 6 проведений аналіз лікування ронколейкіном та ронколейкіном + АСІТ на рівень сенсibilізації до *A. alternata* та стафілококових ентеротоксинів хворих на ХОЗЛ в залежності від II або III



ступенів тяжкості з викладенням числових даних в 8 таблицях. Статистично підтверджено, що застосування ронколейкіну сприяє зниженню рівнів загального та специфічного IgE у хворих як при наявності сенсibilізації до грибів *A. alternata*, так й до стафілококових ентеротоксинів незалежно від ступеня тяжкості ХОЗЛ. Доведено, що проведення АСІТ при сенсibilізації до *A. alternata* значно посилює цей ефект через зниження цих показників до рівня здорових осіб.

Розділ 7 присвячений дослідженню впливу ронколейкіну на клінічний перебіг ХОЗЛ з викладенням даних в 8 таблицях. Показано, що застосування ронколейкіну у хворих на ХОЗЛ незалежно від тяжкості перебігу та характеру визначеної сенсibilізації сприяє підвищенню якості життя, а додаткове застосування АСІТ при наявності сенсibilізації до мікроміцету *Alternaria alternata* – зменшенню загострень захворювання.

Аналіз та узагальнення результатів дослідження представлені на 7 сторінках, стисло, доказово, із порівнянням з даними літературних джерел.

Роботу завершено 6 висновками, які відповідають поставленій меті та завданням дослідження, та 6 практичними рекомендаціями, які є логічним висновком проведених досліджень.

### **Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення**

Є несуттєві зауваження щодо наявних у роботі недоліків.

1) Було б бажано у якості об'єкту дослідження зазначити хронічне обструктивне захворювання легень.

2) Дисертант досліджував більш широке коло питань у хворих на ХОЗЛ, ніж позначено в назві дисертаційного дослідження, а саме:

– при описанні результатів досліджень дуже багато уваги приділено IgE-сенсibilізації хворих на ХОЗЛ;

– окрім застосування ронколейкіну вивчалась також ефективність алергенспецифічної імунотерапії у корекції виявлених імунних порушень, зокрема – у хворих на ХОЗЛ із сенсibilізацією до грибів та бактеріальних алергенів.

3) Не завжди коректно при викладі вмісту роботи використано час (справжній, минулий).

Але ці недоліки не впливають на загальну високу оцінку дисертаційної роботи.

У ході рецензування роботи виникли **запитання**, на які хотілося отримати відповіді на офіційному захисті дисертації:

1. Чим відрізнялись у хворих в залежності від тяжкості ХОЗЛ (II та III ступенів тяжкості):

- імунологічні показники (в тому числі рівень сенсibilізації до вивчених антигенів)?

- ефективність застосування ронколейкіну, АСІТ?

2. Чи впливала наявність у хворих на ХОЗЛ сенсibilізації до грибів *A. alternata* та до стафілококових ентеротоксинів на:

- стан імунної системи?

- перебіг захворювання?

- ефективність застосування ронколейкіну, АСІТ?

3. Чим Ви можете пояснити зростання в крові хворих на ХОЗЛ в процесі застосування ронколейкіну рівня ІЛ-2 при вірогідному зниженні в процесі лікування інших прозапальних цитокінів? Чи можливо це розцінювати як позитивну зміну?

#### **Відповідність дисертації встановленим вимогам**

Таким чином, урахувавши вищесказане, можна зробити висновок про те, що дисертаційна робота Назаренко Олександра Павловича «Ефективність застосування ронколейкіну в корекції імунних розладів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень», у якій вирішується важливе й актуальне наукове завдання сучасної імунології та алергології, а саме – підвищення ефективності лікування хворих на хронічне обструктивне захворювання легень на підставі введення в терапевтичний комплекс та

вивчення ефективності застосування неспецифічної (ронколейкіну) та алергенспецифічної імунотерапії в корекції імунних розладів у хворих.

За актуальністю теми, методичним рівнем та обґрунтованістю результатів дослідження, науковою новизною отриманих результатів, теоретичним і практичним значенням дисертація повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів» щодо кандидатських дисертацій, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, в редакції 2016 року, а здобувач заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія і алергологія.

Завідуюча лабораторії клінічної імунології

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології

ім. Ф.Г. Яновського НАМН України»,

д-р мед. наук, ст. наук. співроб.

О. М. Рекалова

