

ВІДГУК

**офіційного опонента доктора медичних наук,
професора Солошенко Ельвіри Миколаївни,
завідувача лабораторії алергології ДУ «Інститут дерматології та
венерології Національної академії медичних наук України»
на дисертаційну роботу Куртової Маріанни Миколаївни
«Оптимізація алгоритму серологічної діагностики алергійних
захворювань у пацієнтів з полісенсibiliзацією», подану у спеціалізовану
вчену раду Д 64.051.33 Харківського національного університету
імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України на здобуття
наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 –
імунологія та алергологія.**

1. **Актуальність обраної теми.** Дисертаційна робота Куртової Маріанни Миколаївни «Оптимізація алгоритму серологічної діагностики алергійних захворювань у пацієнтів з полісенсibiliзацією» присвячена актуальній проблемі – діагностиці харчової, пилкової та побутової алергії. На сучасному етапі в Україні, як і в усіх промислово розвинених країнах світу, 25% населення страждає від різноманітних алергійних захворювань, серед яких найбільш розповсюдженими є харчова та пилова алергія. Між тим, їх діагностика дотепер залишається недосконалою. Оскільки встановлення найважливішого етапу діагностики - причинного фактору розвитку алергічного стану неможливо лише за даними алергологічного анамнезу і клінічних проявів, то постановка заключного діагнозу алергії базується переважно на лабораторних методах з використанням нових якісно очищених та рекомбінантних алергенів, які мають кілька складових компонентів (мінорні, мажорні частини, карбогідратні детермінанти), серед яких мажорні компоненти присутні лише в певних алергенах, в той час як мінорні (полкальцин, профілін) - у багатьох алергенах. Оскільки відомості про мажорні та мінорні компоненти алергенів не є універсальними і можуть бути застосовані тільки для окремих популяцій, в яких профіль сенсibiliзації до алергенів значною мірою залежить від особливостей місцевих факторів

навколишнього середовища конкретного регіону, то при проведенні діагностики алергійних станів важливо знати епідеміологічні характеристики, що характеризують сукупність алергенів географічного регіону, які не завжди вивчалися, але які зможуть дозволити звужити коло пошуків причинно-значущих алергенів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Представлена дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної роботи кафедри мікробіології, вірусології та імунології Одеського національного медичного університету «Оптимізація діагностики алергійних станів для призначення раціональної специфічної імунотерапії» (номер держреєстрації 0115U006644).

2. Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, наукових висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дисертаційна робота базується на аналізі даних анамнезу 4596 пацієнтів з ускладненим алергологічним анамнезом, які з метою клінічної верифікації діагнозів алергічних захворювань були обстежені на наявність IgE антитіл до рослинних, побутових, харчових алергенів, отрути жалючих комах та латексу методом імуноблотінгу виробництва компанії Mediawiss (Німеччина), тип блоту AlleisaScreen. За результатами одержаних даних до дослідження були включені тільки 500 пацієнтів з встановленим діагнозом сезонного алергічного риніту середнього ступеня тяжкості, які обстежувались з використанням імуноблотів, що містили CCD-маркер – суміш бромелайну, пероксидази хрому та аскорбат оксидази – основних крос-реактивних карбогідратних ланцюгів. Серед обстежених було 275 пацієнтів чоловічої статі та 225 жіночої віком від 19 до 75 років.

Робота виконана на сучасному науково-методичному рівні, що надало змогу отримати достовірні результати та зробити комплексні висновки. Під час виконання роботи застосовано сучасні методи дослідження, методичною основою якого став системний підхід та системний аналіз і використання сучасних методів статистичної обробки первинної інформації. Дисертантом були використані загальноклінічні, імунологічні та серологічні методи (вивчення спектру алергенів, рівню антитіл до перекресних вуглеводних

детермінант алергенів (CCD) у пацієнтів з полісенсibiliзацією, визначення вмісту антитіл до мінорних та мажорних компонентів у пацієнтів з полісенсibiliзацією), а також статистичні методи.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації підтверджується наявністю чітко сформульованих задач дослідження, чималим обсягом проведених досліджень та відображають доцільність їх подальшого застосування у медичній, науковій, практичній та навчально-освітній сфері.

3. Наукова новизна та достовірність положень, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота має наукову новизну, оскільки в роботі проаналізовані результати обстежень 4596 пацієнтів на респіраторні та харчові алергени та виявлено спектр алергенів, які мають пріоритетне значення у Південному регіоні України. Так, серед алергенів рослин раннього цвітіння частіше зустрічалися антитіла до кульбаби та культивованого жита – $21,4 \pm 1,8\%$ та $16,3 \pm 0,8\%$, до алергенів пізнього цвітіння – до амброзії полинолистої короткої ($35,7 \pm 1,7\%$) та амброзії полинолистої ($32,8 \pm 1,1\%$). Серед алергенів, які спричиняють алергію протягом року, антитіла частіше виявлялися до плісняви *Alternaria alternate* ($33,3 \pm 1,0\%$) та до кліщів *Acarus siro* ($30,6 \pm 1,3\%$). У структурі серопозитивності до харчових алергенів найчастіше реєструвалися антитіла до коров'ячого молока $35,67\% \pm 1,60\%$ ($p=0,01$).

Вперше визначено частоту виявлення антитіл до CCD ($21,1 \pm 2,0\%$) у пацієнтів з клінічними проявами алергії, та виявлено кореляційний зв'язок ($r=0,88$) між кількістю позитивних реакцій на досліджувані алергени та відсотком пацієнтів, які реагували позитивно на CCD-маркер, який полягає в тому, що відсоток виявлення антитіл до CCD достовірно збільшувався у пацієнтів з 5 та більше маркерами на одному блоті ($p<0,05$) і складав від $22,7 \pm 6,3\%$ у пацієнтів з 5 маркерами до $54,8 \pm 0,1\%$ при визначенні 10 і більше маркерів.

Встановлено, що пацієнти з наявністю анти-CCD антитіл значно змінюють епідеміологічну картину сенсibiliзації в популяції за рахунок підвищення проценту позитивності до рослинних та інсектних алергенів, а також латексу.

Вперше обґрунтовано доцільність використання CCD-блокеру, при цьому виявлено найбільший відсоток блокування в розрізі груп алергенів за походженням: рослинні алергени (близько 63%), алергени інсектного походження та латекс (близько 28%).

Запропоновано алгоритм обстеження пацієнтів на базі використання CCD-блокерів для подальшого призначення молекулярної діагностики: пацієнти з 5 та більше позитивними реакціями на блоті потребують повторного обстеження з використанням CCD блокеру, що дозволить подолати проблему полісенсibiliзації, яка обумовлена антитілами до бокових карбогідратних ланцюгів.

Достовірність результатів, отриманих у дисертаційній роботі Куртової М. М., ґрунтується на достатній кількості обстежених хворих, використанні широкого спектру клінічних, лабораторних та імунологічних методів досліджень, а також – опитувальників, які широко використовуються при проведенні великомасштабних Європейських досліджень. Для оцінки достовірності отриманих результатів був використаний сучасний пакет статистичних методик, що дозволило зробити достовірні наукові висновки.

4. Повнота викладення сформованих у дисертації наукових положень, висновків і рекомендацій.

Результати дисертації повністю висвітлені в наукових фахових виданнях. За темою дисертації опубліковано 15 наукових праць, з них 6 статей (у тому числі 1 у міжнародному виданні, 5 – у провідних фахових виданнях, включених до переліку МОН України), 9 тез – у науково-практичних конференціях, 1 інформаційний лист та 1 патент на корисну модель.

Дисертаційна робота пройшла апробацію на достатньому рівні (Міжнародна науково-практична конференція: «Молодь – медицини майбутнього», Одеса, 2017; Міжнародна науково-практична конференція: «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» присвячена 100-річчю з дня народження С. І. Корхова, Одеса, 2018; Науково-практичний семінар «Нові досягнення в діагностиці алергії та сучасний стан досліджень захворювань імунної системи», Київ, 2018; Міжнародна науково-практична конференція: «Молодь – медицини майбутнього», Одеса, 2019).

5. Структура, зміст і завершеність дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота Куртової М. М. викладена на 172 сторінках машинописного тексту, містить 18 таблиць, 39 рисунків і складається із основної частини: вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, п'яти розділів результатів власних досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який налічує 205 посилань і займає 23 сторінки, а також додатків.

Вступ містить актуальність теми, мету та завдання дослідження, наукову новизну та практичне значення роботи, які викладені чітко та логічно.

Огляд літератури «Алергійні захворювання – актуальна проблема в Україні та в світі» представлено 6 підрозділами (1.1. Міжнародна номенклатура алергенів; 1.2. Чинники респіраторних алергійних захворювань; 1.3. Чинники харчової алергії; 1.4. Основні аспекти діагностики пацієнтів з АЗ; 1.5. Перехрестно-реагуючі карбогідратні детермінанти та їх роль у серологічній діагностиці АЗ; 1.6. Компонентна алергодіагностика та її роль у призначенні СІТ).

У **другому розділі роботи** дисертантка дає опис матеріалів та методів дослідження (серологічні – визначення загального IgE та специфічних імуноглобулінів методом імуноблоттінгу; статистичні – обчислення значення середньої арифметичної величини і її стандартного квадратичного відхилення ($M \pm m$), визначення достовірності отриманих результатів за критерієм достовірної відмінності величин χ^2 Пірсона при різниці достовірності $p < 0,05$), які є достатньо сучасними та повністю відповідають поставленій меті та завданням.

Третій розділ «Вивчення профілю сенсibilізації у пацієнтів з ускладненим алергологічним анамнезом у Південному регіоні України» складається із 3-х підрозділів (3.1 Структура сенсibilізації до outdoor алергенів; структура сенсibilізації до indoor алергенів; вікові зміни сенсibilізації до респіраторних алергенів; 3.2 Профілі сенсibilізації до отрути комах та латексу; 3.3 Профілі сенсibilізації до харчових алергенів).

Четвертий розділ дисертації присвячено епідеміологічним аспектам CCD-позитивності у пацієнтів з сезонним алергічним ринітом.

У п'ятому розділі дисертантка досліджує вплив антитіл до бокових карбогідратних ланцюгів алергенів (CCD) на популяційний профіль сенсibilізації пацієнтів у Південно-західному регіоні України.

Шостий розділ розкриває «Ефективність використання CCD-блокерів у пацієнтів з полісенсibilізацією».

У сьомому розділі представлена оптимізація призначення молекулярної діагностики алергічних захворювань за рахунок використання CCD-блокерів.

Висновки та практичні рекомендації логічно виходять із викладеного матеріалу та достатньо повно його відображають. Всі положення дисертації та висновки обґрунтовані. Основні положення дисертації ідентичні змісту автореферату.

Практичне значення отриманих результатів

Отримані дані дозволять лікарям виявляти харчові та респіраторні алергени, які мають пріоритетне значення у Південному регіоні України та визначати ключові алергени у різних вікових групах.

Встановлена частота виявлення антитіл до CCD, їх вплив на спектр пріоритетних алергенів та на полісенсibilізованість у пацієнтів з проявами респіраторної алергії.

Для виявлення антитіл до трьох видів CCD (бромелайну, пероксидази хрому та аскорбат оксидази) був виготовлений лінійний CCD-блот (деклараційний патент на корисну модель №124792).

На основі цих даних була оптимізована тактика серологічної діагностики алергійних захворювань: пацієнти з 5 та більше позитивними реакціями на блоті потребують повторного обстеження з використанням CCD блокеру, що дозволить подолати проблему полісенсibilізації, яка обумовлена антитілами до бокових карбогідратних ланцюгів та оптимізувати необхідність використання молекулярної діагностики для призначення раціональної специфічної імунотерапії (інформаційний лист).

Результати роботи впроваджено у науково-дослідний процес Інституту експериментальної і клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця (акт впровадження від 18.03.2019 р.) та в лабораторії клінічної імунології та алергології ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН

України" (акт впровадження від 01.09.2019 р.). Результати дослідження впроваджено в навчальний процес на кафедрі клінічної, лабораторної імунології та алергології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика (акт впровадження від 20.03.2019 р.), на кафедрі клінічної імунології та мікробіології Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 01.09.2019 р.), на кафедрах клінічної імунології, генетики та медичної біології (акт впровадження від 01.09.2019 р.) та загальної та клінічної патологічної фізіології (акт впровадження від 01.09.2019 р.) Одеського національного медичного університету.

Із недоліків роботи слід відзначити такі:

1. У деяких розділах дисертації доцільно було б деякі із великих таблиць (табл. 3.4; 3.5; 5.3) продублювати діаграмами або малюнками (графіками). Аналогічно це б було доцільно зробити і в авторефераті.
2. У деяких підрозділах тексту дисертації скорегувати стиль викладення матеріалу.
3. У назвах таблиць доцільно було б слова «outdoor» і «indoor» перекласти на українську мову.

При ознайомленні з дисертацією виникли деякі питання:

1. Як впливають епідеміологічні аспекти ССД-позитивності на оптимізацію розробленого Вами алгоритму серологічної діагностики алергії?
2. Доцільність вивчення за даними Ваших досліджень популяційного профілю сенсibilізації при діагностиці алергійних захворювань?
3. Критерії диференціювання за даними Ваших досліджень істинних та хибно позитивних алергійних реакцій і що в алгоритмі, запропонованому Вами, дозволяє не використовувати дорогий метод молекулярної діагностики?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Куртової Маріанни Миколаївни «Оптимізація алгоритму серологічної діагностики алергійних захворювань у пацієнтів з полісенсibilізацією», 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 кандидата 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 – оптимізації алгоритму серологічної діагностики алергійних захворювань у пацієнтів з полісенсibiliзацією.

За своєю актуальністю, науковою та практичною значущістю, одержаними результатами та об'ємом досліджень, кількістю наукових публікацій та рівнем впровадження, робота Куртової М. М. відповідає вимогам п.11-13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 (зі змінами) щодо кандидатських дисертацій, а її автор – Куртова Маріанна Миколаївна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

Завідуючий лабораторією алергології

ДУ «Інститут дерматології та венерології

НАМН України», д.мед.н., професор

Е.М. Солошенко

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
ІНСТИТУТ ДЕРМАТОЛОГІЇ ТА ВЕНЕРОЛОГІЇ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

ПІДПИСИ ЗАСВІДЧУЮ

ст. і.с.п. з кадрів
(посада) (підпис)
Солошенко (на підпис)

