



РЕЦЕНЗИЯ

От проф. Д-р МАРИЯ ХРИСТИЯНОВА НИКОЛОВА, д.м.н.,
зав. Национална референтна лаборатория по имунология, НЦЗПБ, София
на дисертационния труд на д-р МАРТИН НЕДЯЛКОВ ГЕОРГИЕВ
на тема: **„Роля на PR-10 протеините за развитие на алергия към дърветата от сем.
Betulaceae и появата на кръстосана реактивност към определени хранителни алергени ”**
за присъждане на образователна и научна степен „Доктор” по докторска програма
Имунопатология и алергология, в професионално направление 7.1.Медицина
от област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт.

Добре известен факт е, че през последните 50 г. честотата на алергични заболявания прогресивно нараства, като вече са засегнати не само индустриализираните, но и развиващите се страни. По данни на СЗО, честотата на сенсibiliзация към един или повече разпространени алергени сред децата в училищна възраст доближава 50%., близо 240 млн. души страдат от астма и всеки пети поне веднъж през живота си получава уртикариален обрив. Известно е, също така, че полинозата е най-често срещаната форма на сезонно алергично заболяване, а брезовата алергия - една от най-честите поленови алергии, засягаща 10 – 20 % от Европейската популация. Все по-често център на внимание е хранителната алергия, която значително може да наруши качеството на живот, особено в детската възраст.

Сравнително слабо проучен, обаче, е обаче феноменът кръстосана алергия. Всъщност, повече от 60% от хранителните алергии са проява на кръстосана реактивност към някои хранителни и инхалаторни алергени. Една от най-честите прояви на хранителна алергия, т.нар. орално алергичен синдром, например, засяга до 80% от пациентите с алергия към брезовия полен. Свързаните с патогенезата (PR) протеини от своя страна са едни от най разпространените растителни “паналергени” – т.е. хомоложни алергенни компоненти, предизвикващи кръстосана реактивност. Познаването на феномена и обуславящите го алергени има пряко отношение към процедурите за диагностика, терапевтичното поведение и възможността да се предвижда и предотвратяват клиничните прояви на IgE-кръстосаната реактивност. Независимо, че ОАС най-често има локален характер, възможни са и системни прояви с различна степен на тежест, в т.ч. - анафилаксия. Следователно, темата на настоящия дисертационен труд е значима, логично подбрана и представлява определен научно-практически интерес.

Дисертационният труд на д-р Мартин Недялков, е развит на 131 страници. Дисертационният труд е структуриран класически и съдържа частите Въведение 2 стр., Литературен обзор – 50 стр., Цел и задачи 1 стр., Материали и методи 16 стр., Резултати – 20 стр., Обсъждане – 11 стр., Изводи – 1 стр., Публикации във връзка с дисертационния труд и Библиография -13 стр. Илюстриран е с 26 фигури, 8 таблици и едно Приложение. Библиографията включва 123 източника, от които една трета - от последните 10 год. Добро впечатление прави изчерпателният преглед на българските проучвания в изследваната област – цитирани са 18 български автори, от които 12 – на кирилица.

Уводът въвежда в проблема PR-10 протеини и кръстосаната хранителна алергия. И формулира практическите ползи от подобно проучване. Литературният обзор за мен е много изчерпателен и съдържа цялата необходима информация по темата. Изяснени са основните понятия имунен отговор, свръхчувствителност, алергия и атопия, механизмите и елементите на алергичните реакции; разгледани са общите характеристики на антигените и различните им класификации, както и съвременната епидемиология на алергичните заболявания. Специално място е отделено на полените, хранителните алергени, компонентите на брезовия алерген и в частност - PR-10 протеините, както и на механизмите на кръстосаната реактивност и факторите, обуславящи клиничните прояви на алергията. В обзора логично са намерили място и резултати от предшестващо аеробиологично проучване на колектива, с които се обосновава много добре изборът на темата: установено е, че през периода 2012 – 2014 дървесните полени съставляват над 83 % от полените в атмосферния въздух, като количествено преобладават полените на видовете от сем. Betulaceae и на самата бреза.

Целта „да се проучи ролята на PR-10 протеините за развитие на алергия към дърветата от сем. Betulaceae и появата и степента на кръстосана реактивност между Polenovata алергия и алергията към определени храни, които съдържат аналози на тези протеини“ е довела до формулиране на четири логично изведени задачи. Продължавам да считам, че като пета задача можеше да се включи изработеният алгоритъм за поведение при пациенти с данни за алергия към Polen на сем. Betulaceae и/или при пациенти с орално-алергичен синдром (ОАС), пред вид клиничната насоченост на проучването.

Раздел Материал и Методи съдържа описани в необходимия обем и добре илюстрирани *in vivo* и *in vitro* техники. В сравнение с първоначалния вариант е допълнен с дизайн на проучването, който отразява логиката и последователността на извършените изследвания и значително улеснява възприемането на частта резултати, както и с използваните статистически методи.

Резултатите представляват обобщение на 630 изследвания на над 500 пациента, което прави алерго-епидемиологичните заключения напълно достоверни. Използван е почти целият

съвременен набор от рутинни и специализирани *in vivo* и *in vitro* методи за алергологични изследвания: интрадермални, прик- и prick-to-prick кожно-алергични проби, имуносорбентен полуколичествен метод за определяне на специфично IgE и високочувствителен имунофлуоресцентен метод за количествено определяне на алерген-специфично IgE, immunoCAP. Използвани са богати набори от групови и индивидуални дървесни (29 броя) и хранителни (10 бр) алергени, за пръв път е приложена в мащабно проучване т.нар. компонентно диференцираща диагностика с молекулярни компоненти на брезов полен (4 бр.) и хранителни алергени (6 бр). Личните ми впечатления от работата на д-р Недялков са, че докторантът познава в детайли и е напълно способен да осъществи самостоятелно описаните методи. Резултатите са насочени към последователно решаване на задачите, формулирани във връзка с основната цел. Коректно са подбрани съответните методи и алергени за тестване. Като най-съществени бих отбелязала следните резултати.

1. На базата на мащабното изследване на пациенти с алергични прояви (n=325) с *in vitro* набор за полуколичествено определяне на IgE антитела срещу 10 растителни и 10 хранителни алергена е установено сравнително ниско ниво на сенсибилизация към брезов полен (13 %), на фона на средните за Европа нива от 15-20%. От изследваните хранителни алергени, алергията към бреза корелира най-значимо с тази към лешник. Графиките създават впечатление за полово-свързани разлики във вида и степента на сенсибилизация към отделни дървесни и хранителни алергени. Въпросът ми към докторанта е установил ли е статистически значими разлики, как ги обяснява и дали те съвпадат с литературните данни. Има ли възможност за оценка на допълнителни фактори върху вида на сенсибилизацията като напр. местоживеене (регионални проучвания в Италия например показват значими разлики)

2. *In vivo* изследването на пациенти с прояви на алергия към дървесни полени и ОАС (n=149) установява изключително висока честота на сенсибилизация към груповия дървесен полен БП1 (97%), свързана с най-разпространените у нас брезови видове: леска, бреза, елша и габър. Тези резултати са потвърдени с immunoCAP *in vitro*

3. При всички пациенти, сенсibiliзирани към алергени от сем. брезови (100%), се открива сенсibiliзация към поне един (най-често три) хранителни алергена, най-често : лешник , ябълка и соя, (потвърдено с три вида КАП)

4. Чрез т.нар. компонентно диференцираща диагностика (component resolved diagnostics, SPAC панел) в подгрупа пациенти с алергия към дървесни полени и ОАС (n=34) е демонстрирана водещата роля на паналергена Betv1 (PR-10, 94%), за разлика от Bet v2 (профилин, 6%), Bet v4 (Ca⁺⁺ свързващ протеин, 6%) и Betv6 (ензим-редуктаза, 24%). Този резултат не съвпада с литературните данни за доминиране на Betv2 и Bet v4 в Южна Европа.

5. При повечето изследвани пациенти количеството IgE антитела срещу алергените от цял екстракт на брезов полен е значително по-малко от количеството антитела срещу главния алерген Bet v 1

6. При малка група пациенти с дървесна полиноза и ОАС (n=11) *in vitro* е демонстрирана ролята на PR-10 протеините за проявите на кръстосана алергия: при всички изследвани пациенти високите нивата на Bet v1 – специфично IgE се придружават от сигнификантно повишени нива на IgE срещу PR – 10 протеини в лешник, соя, ябълка, фъстък, праскова и киви. Нивата на IgE срещу Cor a 1 (лешник) са значително по-високи и корелират най-добре с тези на Betv1, следвани от анти Glym4 IgE. (соя)

7. При всички пациенти количеството на IgE антитела срещу алергените от хранителен произход е значително по-малко от количеството антитела срещу главния алерген Bet v 1. Въпросът ми към докторанта е как тълкува този резултат и има ли той отношение към диагностичното и терапевтично поведение при пациентите с кръстосана алергия. Дали проявите на дихателна алергия във всички случаи предхождат тези на хранителна алергия. Има ли подробни анамнестични данни за клиничните прояви на хранителна алергия в групата от 149 пациента с данни за алергия към групов брезов алерген и дали винаги се касае за ОАС. Има ли корелация между тежестта на клиничните прояви на инхалаторната и хранителна алергия.

Дисертационният труд е спечелил много от стегнатото, бих казала - дидактично обсъждане на резултатите, което обобщава изследването и извежда основните оригинални и научно-приложни приноси. Искам да подчертая, че докторантът до голяма степен се е съобразил с направените от мен в предварителния отзив за дисертацията съществени и формални забележки. Обръщам внимание на някои технически пропуски като: липса на означения на ординатите (фиг. 20,24,25,26), липса на означения за статистическа значимост (фиг. 21 и 22), неправилно формулирана легенда (фиг. 22), без те да намаляват научната стойност на труда.

Приемам направените изводи и формулираните приноси. Като оригинални бих определила следните научни и научно-практически приноси:

1. За пръв път е осъществено мащабно проучване на честотата и характера на сенсбилизация към дървесни полени в България. Като се има пред вид, че разпространението на този тип алергия е географски обусловено, такова национално-специфично проучване е неизбежно необходимо и по същество оригинално в международен мащаб.

2. Определени са дървесните видове, свързани най-често с прояви на дихателна алергия в България.

3. Оригинални са данните за относителната роля на молекулярните компоненти на брезовия полен за проявите на алергия при българските пациенти, а именно - водеща роля на PR-10 протеина Bet v 1, следван от Bet v6, и неочаквано ниска значимост на профилин.

4. Демонстрирана е директно ролята на PR-10 протеините, влизаци в състава на брезовия полен и алергените на определени храни от растителен произход за поява на кръстосана реактивност при български пациенти с поленова алергия и съпътстващ орален алергичен синдром.

5. Установената водеща роля на хранителния алерген Cor a 1 (лешник) и Gly4 m (соя) е оригинален резултат с много съществено практическо значение. Установените национални особености в честотата и специфичността на кръстосана алергия са основа за стандартизиране на алергенните екстракти, използвани за диагностика и имунотерапия на българските пациенти. Трябва да се подчертае, че за разлика от повечето PR-10 алергени, водещи до ОАС с локални прояви, Gly m4 се асоциира с анафилактични реакции.

6. Получените резултати са станали основа за изработване на диагностичен алгоритъм, съчетаващ конвенционалната и молекулярната диагностика при пациенти с алергия към брезови полени, както и за оценка на риска на всеки отделен пациент за развитие на съпътстващи алергични симптоми, дължащи се на кръстосана реактивност.

7. Установените национални особености в честотата и специфичността на кръстосана алергия могат да послужат за стандартизиране на алергенните екстракти, използвани за диагностика и имунотерапия.

Още един практически принос, който авторът е спестил, е възможността на базата на получените резултати да се разработят указания за адаптиране на диетичните режими на пациентите, доколкото кръстосано реагиращите алергени се отличават с различна термоустойчивост и рН-чувствителност и предизвикват клинични прояви с различна тежест. На базата на получените резултати могат да се разработят указания за адаптиране на диетичните режими на пациентите, доколкото кръстосано реагиращите алергени се отличават с различна термоустойчивост и рН-чувствителност и предизвикват клинични прояви с различна тежест.

Докторантът е представил подходящо оформен автореферат. Публикационната активност, свързана с дисертацията, включва 6 публикации, от които 3 – в международни издания. Докторантът е първи автор на две публикации на български и руски език. Бих препоръчала обзорът в специалната му част – PR протеини и кръстосана реактивност да се публикува от докторанта като първи автор.

Бих искала да подчертая възможността за доразвиване на получените резултати в бъдещи научни изследователски проекти. Определен интерес представлява ефектът от

прилагана специфична имунотерапия срещу брезовия полен върху кръстосаната хранителна алергия, ролята на други групи протеини, свързани със системни алергични реакции (storage- и nsLTps) при кръстосаната алергия в българската популация, участието на Т-лимфоцити, респективно – прояви на алергия от забавен тип в патологичния отговор срещу PR-10 протеините. Смятам, че с представения труд д-р Недялков успешно допълва професионалния си профил на изключително активен и с многостранни интереси клиницист и лабораторен специалист.

Заключение: Дисертационният труд на д-р Мартин Недялков е стойностна и добре замислена научна разработка. Докторантът е реализирал самостоятелно достатъчни по обем и убедителни като дизайн изследвания, довели до оригинални теоретични и практически резултати, с потенциал за доразвиване. Давам убедено положителната си оценка и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да присъдят на д-р Мартин Недялков Георгиев образователната и научна степен „Доктор” по научната специалност “Имунопатология и алергология”.

ПОДПИС:

