

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 21.05.2018.godine, broj 5940/16-MŽ, imenovana je komisija za ocenu završne doktorske disertacije pod naslovom:

"Povezanost *in vivo* i *in vitro* testova na nutritivne alergene kod dece"

kandidata Mr dr Mirjane Živanović, zaposlene u Specijalnoj bolnici "Sokobanja" u Sokobanji. Mentor je Prof.dr Vojislav Đurić, a komentor je Doc.dr Marina Atanasković-Marković.

Komisija za ocenu završne doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof.dr Branimir Nestorović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof.dr Aleksandra Perić-Popadić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof.dr Hristina Stamenković, profesor Medicinskog fakulteta u Nišu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završne doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija Mr dr Mirjane Živanović napisana je na ukupno 170 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi ispitivanja, ispitani bolesnici i metodi istraživanja, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 44 tabele, 37 grafikona i 12 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je definisano šta je to nutritivna alergija, koji su tipovi nutritivne alergije, epidemiologija, klinička prezentacija na koži, respiratornom i gastrointestinalnom sistemu, kao i anafilaktička reakcija. Opisani su faktori rizika i mehanizam nastanka nutritivne alergije. Detaljno je opisana senzibilizacija i oralna tolerancija kao i njeni mehanizmi: imuna supresija, delecija i anergija. Na adekvatan način su prikazani nutritivni alergeni koji su bili predmet ovog rada: kravlje mleko, belance jajeta, kikiriki, pšenično brašno, soja i kivi; osim njih prikazani su i nutritivni koji najčešće izazivaju alergijske reakcije kod dece, uz poseban osvrt na unakrsnu reaktivnost među pomenutim alergenima sadržanim u namirnicama. Takođe je prikazan detaljan osvrt na dijagnostiku nutritivne alergije uz poređenje dijagnostičkih procedura i njihov značaj za pravilnu evaluaciju nutritivne

alergije. Na kraju uvodnog dela dat je kraći prikaz terapije i imunoterapije nutritivne alergije sa anlizom dosadašnjih saznanja iz ove oblasti.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od poređenja rezultata dobijenih izvođenjem kožnog prik testa s komercijalnim ekstraktima i svežom hranom, poređenja rezultata dobijenih određivanjem vrednosti specifičnog IgE i kožnog prik testa komercijalnim ekstraktima i poređenja rezultata dobijenih određivanjem vrednosti specifičnog IgE i koćnog testa svežom hranom. Takođe kao cilj rada navedena je i analiza učestalosti drugih alergijskih bolesti kod ispitivanih pacijenata.

U poglavlju **materijal i metode** navedeno je da se radi o studiji koja je sprovedena u Univerzitetskoj dečjoj klinici u Beogradu i u Specijalnoj bolnici "Sokobanja" u Sokobanji. Detaljno su opisani kriterijumi za uključenje u studiju, kao i za isključenje iz studije. Ispitivana su deca sa anamnezom o kliničkoj ekspresiji IgE posredovane nutritivne alergije na jednu od namirnica: kravlje mleko, belance, kikiriki, pšenično brašno, soja i kivi. Ovo istraživanje je odobreno od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, kao i od strane Etičkog komiteta Univerzitetske dečje klinike u Beogradu. Svi roditelji pacijenata su dali pisani pristanak pre uključjenja u studiju. Detaljno je opisano izvođenje testova: kožni prik test s komercijalnim ekstraktima, kožni prik test svežim namirnicama, određivanje vrednosti specifičnog IgE.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 363 reference.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Najveći broj dece koji su ispitivani bio je senzibilisan na proteine kravljeg mleka, njih 142. Najčešći klinički simptomi kod ove dece bili su urtikarija sa gastrointestinalnim tegobama i urtikarija kao samostalni simptom. U analiziranju dijagnostičkih procedura korišćenih u radu prikazano je da su statistički značajno veće vrednosti veličine prečnika papule u kožnom testu sa svežom hranom. Od pozitivnih vrednosti određivanog specifičnog IgE najveći broj dece imao je klasu II i klasu III. Poređenjem sva tri testa pokazano je da najviše pozitivnih rezultata bilo u toku korišćenja sveže hrane za kožno testiranje, a najmanji broj pozitivnih ishoda bio je u rezultatu specifičnog IgE. Pokazano je da postoji slaganje dobijenih pozitivnih rezultata analiziranih testova. U pogledu senzitivnosti i specifičnosti ispitivanih testova pokazano je da kožni test komercijalnim ekstraktima ima manju senzitivnost i specifičnost, kožni test svežim namirnicama veću senzitivnost, a malu specifičnost, a određivanje spec.IgE srednju senzitivnost, ali višu specifičnost za postojanje alergije na hranu.

Na belance je bilo senzibilisano 137 deteta. Podjednak broj ispitanika imao je samostalno urtikariju i urtikariju sa gastrointestinalnim tegobama, u odnosu na druge kliničke simptome nutritivne alergije. I u slučaju belanca pokazane su veće vrednosti kod kožnog testa sa svežom hranom. Najveći broj dece imao je vrednosti specifičnog IgE klase II i III. Najveći broj pozitivnih rezultata

bio je u toku kožnog testa svežim namirnicama, mada s neznatnom razlikom u odnosu na kožni test komercijalnim ekstraktima. U radu je jasno pokazano da postoji podudaranje pozitivnih rezultata sva tri testa, bilo je ispitanika kod kojih su kožni testovi pozitivni, ali su vrednosti spec IgE negativne. Pokazana je izuzetno visoka senzitivnost kožnog testa svežom hranom skoro bliska jedinici (0,99), ali sa slabom specifičnošću. I ovde je pokazana ravnoteža između senzitivnosti i specifičnosti kod vrednosti specifičnog IgE.

Na kikiriki je bilo senzibilisano 98 deteta. U radu je pokazano da je najveći broj ispitivane dece imao urtikariju kao samostalni simptom ekspresije nutritivne alergije na kikiriki, ali da je značajni broj dece imao i angioedem, kao i angioedem udružen sa urtikarijom. Pokazano je u radu da su veće vrednosti veličine papule dobijene korišćenjem sveže hrane u kožnom testu. Vrednosti specifičnog IgE kod najvećeg broja dece bile su negativne, a od pozitivnih najveći broj imao je klasu II i III. Pokazana je podudarnost pozitivnih rezultata testova, ali je veća podudarnost među kožnim testovima, a nešto manja u pogledu poređenja kožnog testa i vrednosti specifičnog IgE. Pokazano je da kožni test sa svežim namirnicama ima veću senzitivnost (koja je nešto manja u poređenju sa proteinima kravljeg mleka i belancem), izuzetno nisku specifičnost, dok je senzitivnost i specifičnost najveća kod kožnog testa sa komercijalnim ekstraktima. Specifični IgE je pokazao srednju senzitivnost i nižu specifičnost.

Pšenično brašno je bilo uzrok kliničke ekspresije nutritivne alergije kod 74 deteta. U studiji je pokazano da je najveći broj dece imao urtikariju kao klinički simptom. I kod ove namirnice veće vrednosti papule dobijene su sa svežom hranom. Vrednosti specifičnog IgE kod najvećeg broja dece bile su klase II. Pokazano je da postoji veća podudarnost kožnog testa komercijalnim ekstraktima i specifičnog IgE, mada su najpodudarniji pozitivni rezultati oba kožna testa. U radu je pokazano da najveću senzitivnost ima kožni test sa svežim namirnicama, a najveću specifičnost ima određivanje vrednosti specifičnog IgE.

Od ukupnog broja dece na alergen soje je ispitivano 76 deteta. Rezultati rada su pokazali da je gotovo podjednak broj dece imao urtikariju kao jedini simptom i urtikariju udruženu sa respiratornim simptomima. I ovde je pokazano da je dobijena veća vrednost papule u kožnom testu sa svežim namirnicama. Najveći broj dece imao je negativne vrednosti specifičnog IgE, a od pozitivnih vrednosti najviše je bilo onih sa klasom II. Podudarnost pozitivnih rezultata veća je među kožnim testovima, a nešto manja u poređenju kožnih testova i specifičnog IgE. Rezultati dobijeni u radu su pokazali da najveću senzitivnost ima kožni test sa svežim namirnicama, zatim kožni test sa komercijalnim ekstraktima, a najmanju senzitivnost ima specifični IgE, ali on opet ima najveću specifičnost od sva tri analizirana testa.

Na kivi je bilo ispitivano 44 deteta. U radu je pokazano da je najveći broj dece imao urtikariju sa respiratornim simptomima, a nešto manji broj samo urtikariju kao klinički simptom. Kao i za sve napred ispitivane alergene i za kivi je pokazano u radu da je papula bila veća u kožnom testu sa svežim namirnicama. U radu je pokazano da je najveći broj dece imao vrednosti specifičnog IgE klase II. Najviše pozitivnih rezultata bilo je u kožnom testu svežim namirnicama, pokazana je veća podudarnost kožnog testa sa komercijalnim ekstraktima i specifičnog IgE. Rezultati senzitivnosti i specifičnosti pokazali su da je najveća senzitivnost kožnog testa sa svežim namirnicama, a najveću specifičnost pokazao je test za određivanje specifičnog IgE.

U radu je analizirana učestalost astme, alergijskog rinitisa i atopijskog dermatitisa. Podaci su pokazali da je najveći broj dece imao pored nutritivne alergije i atopijski dermatitis, zatim astmu, a najmanji broj ispitivane dece imao je alergijski rinitis.

C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Do danas nije učinjeno nijedno istraživanje u Srbiji koje se odnosi na ispitivanje povezanosti dijagnostičkih testova sa sumnjom na nutritivnu alergiju. Iako je provokacioni test hranom zlatni standard za dokazivanje nutritivne alergije i drugi testovi su u širokoj upotrebi sa manjom ili većom tačnošću. U sličnim studijama poređene su razlike između rezultata dobijenih upotrebom komercijalnih ekstrakata i sveže hrane (Calvani Mauro i saradnici, 2007. Rance F i saradnici, 2001, Nogard i saradnici, 1992, Winstein RL i saradnici 2007). Alergija na kravlje mleko je pokazala kliničku ekspresiju sličnu ostalim studijama (Shek i saradnici, 2005, Meglio i saradnici, 2004). U skoro svim studijama korišćene su cut-off vrednosti ili granične vrednosti, (Eingmann i saradnici, Sampson HA, 1997), što je slučaj i u našoj studiji te je cut-off vrednost za kožne testove 3 mm. Srednja vrednost prečnika papule u kožnom testu sa komercijalnim ekstraktima bila je 3,31 mm, dok je srednja vrednost u kožnom testu sa svežom hranom bila 4,69 mm. Srednje vrednosti specifičnog IgE ispitivane su u brojnim studijama i postoji velika razlika od autora do autora za cut-off vrednosti (Gray i saradnici, 2014, Perry i saradnici 2004, Garsia-Ara i saradnici 2004, Celik-Bilgili i saradnici, 2005). Srednja vrednost spec IgE u našoj grupi dece bila je 4,06 kU/l. Kod dece gde postoji podudarnost pozitivnih rezultata sva tri testa (78 deteta) možemo izbeći provokaciju hranom kao potencijalno rizičnu.

U analiziranju alergije na belance dobili smo slične rezultate kao i studijama u literaturi što se tiče kliničke ekspresije (Boyano-Martinez i saradnici, 2001, Uguz i saradnici, 2005). Cut-off vrednosti su određivane i za kožni test na belance (Alvaro M i saradnici 2014, Sporik R i saradnici 2000) u skladu sa studijama u literaturi. Srednja vrednost prečnika papule u kožnom testu sa komercijalnim ekstraktima bila je 3,72 mm, a sa svežom hranom 4,85 mm. I vrednosti za spec IgE se veoma razlikuju u studijama kao i kod nas, a često slabo koreliraju sa rezultatima provokacionog testa (Garcia-Ara i saradnici, 2001, Boyano-Martinez i saradnici, 2001). Srednja vrednost spec. IgE u našoj grupi dece alergične na belance bila je 6,76 kU/l. 90 deteta ima pozitivne rezultate sva tri testa i kod njih ne bi trebalo raditi provokaciju hranom.

Alergija na kikiriki je veoma česta tema u studijama. Klinička ekspresija je različita što je i u našem radu slučaj, a u studijama se pominju i životno ugrožavajuće reakcije (Yunginger i saradnici, 1992, Mueller i saradnici, 2011). Cut-off vrednosti za kikiriki su takođe različite u studijama (Sporik i saradnici, 2000, Rance i saradnici, 2002), a naša cut-off vrednost bila je 3 mm i za kikiriki. Srednje vrednosti prečnika papule za kožne testove bile su: za komercijalne ekstrakte 3,72 mm, a za svežu hranu 4,87 mm. Vrednosti za specifični IgE su analizirane u studijama (Wang i Samson, 2015, Peters i saradnici, 2013) u našem radu srednja vrednost za specifični IgE bila je 2,66 kU/l. Od ukupnog broja dece ispitivane na alergiju na kikiriki 40 deteta imalo je pozitivan rezultat sva tri testa i tu bi provokacija hranom bila suvišna.

Alergija na pšenično brašno se klinički ispoljava kožnim, gastrointestinalnim i respiratornim simptomima, što se podudara sa podacima dobijenim u našem radu i u skladu je sa drugim studijama (Patria i saradnici, 1992, Siever i saradnici, 2016). Cut-off vrednosti za pšenično brašno

su različite, u našem radu 3 mm je bila pozitivna vrednost, a srednja vrednost kožnog testa sa komercijalnim ekstraktima bila je 3,18 mm, dok je srednja vrednost kožnog testa sa svežom hranom 4,91mm. Srednja vrednost za specifični IgE bila je 4,02 kU/l. Kod 35 deteta su sva tri testa bila pozitivna što bi moglo da bude dovoljno za dijagnozu nutritivne alergije.

Alergija na soju kod naših ispitanika klinički eksprimovala na koži najčešće, ali i u respiratornom i digestivnom traktu, a to je u skladu sa literaturom(Grimalt i saradnici, 1991, Zeiger i saradnici, 1999). Cut-off vrednosti za soju su različite kao i za ostale alergene, srednja vrednost papule sa komercijalnim ekstraktima bila je 3,33 mm, a sa svežom hranom 4,70 mm. Srednja vrednost specifičnog IgE bila je 1,40 kU/l, što je ujedno i najniža srednja vrednost od ispitivanih alergena. U studiji Komata i saradnika iz 2009 dobijene su znatno više vrednosti specifičnog IgE. Sva tri testa za određivanje nutritivne alergije na soju bila su pozitivna kod 30 deteta što može isključiti neophodnost provokacije hranom.

Kivi je čest uzrok alergijske reakcije u poslednjih deset godina sa raznolikom kliničkom ekspresijom, najčešće sa oralno-alergijskim sindromom, ali i sa bolom u stomaku uz ostale gastrointestinalne reakcije (Lucas i saradnici, 2003, gall i saradnici, 1994). Srednja vrednost papule za kožni test komercijalnim alergenima bila je 3,32 mm, a sa svežim namirnicama bila je 4,66 mm. U studiji Francesce Uberti, 2015. kožni testovi sa svežim kivijem dali su rezultat papule 5,5 mm Srednja vrednost za specifični IgE za kivi bila je 3,11 kU/l. U pomenutoj studiji Uberti vrednosti spec IgE su često bile i ispod 0,35 kU/l. U studiji Gavrović-Jankulović i saradnika samo jedno dete je imalo vrednost 2,89, a sve ostale su bile ispod 1 kU/L. Kod nešto manje od polovine ispitanika, njih 21, postojala je podudarnost pozitivnih rezultata sva tri testa što bi moglo isključiti provokaciju hranom.

U pogledu komorbiditeta drugih alergijskih bolesti većina dece je imala atopijski dermatitis i astmu, manji broj dece je imao alergijski rinitis, što je u skladu sa uzrastnom strukturom dece, što je u skladu sa podacima iz literature (Vogel i saradnici, 2008, Morisswt i saradnici, 2003).

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Mirjana Živanović, Marina Atanasković-Marković, Biljana Međo, Marija Gavrović-Jankulović and Katarina Smiljanić, Vladimir Tmušić and Vojislav Djurić. Evaluation of Food Allergy in Children by Skin prick Tests with Commercial Extracts and Fresh Foods, Specific IgE and Open Oral Food Challenge-Our Five Years Experience in Food Allergy Work-up. Iran J Allergy Asthma Immunol (2017); 16(2):127-132.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija "Povezanost *in vivo* i *in vitro* testoba na nutritivne alergene kod dece" Mr dr Mirjane Živanović, kao prvi ovakav rad u našoj zemlji predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju dijagnostičkih testova nutritivne alergije i važnosti njihove pouzdanosti i podudarnosti radi što bolje dijagnostike i eliminacije provokacije hranom koja uzima puno vremena za izvođenje i sa sobom nosi i potencijalne rizike. Pokazano je da bi drugi testovi ponaosob ili zajedno mogli zameniti testove provokacije. Ovaj rad pokazuje i važnost kliničke ekspresije

nutritivne alergije koja često upućuje koju dijagnostičku proceduru biramo u toku dijagnostičkog postupka. Posebno treba naglasiti da je pokazana važnost tačne dijagnoze nutritivne alergije zbog eventualne greške koja za sobom nosi malnutriciju sa jedne strane i anafilaksu sa druge strane. Ovo pokazuje veliki značaj nutritivne alergije posebno u dečjem uzrastu, jer predstavlja problem zdravstvenog sistema, ali i celokupnog društva.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani i iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju mr dr Mirjane Živanović i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu 08.06.2018.2018.

Članovi komisije:

Prof.dr Branimir Nestorović

Prof.dr Aleksandra Perić-Popadić

Prof.dr Hristina Stamenković

Mentor:

Prof.dr Vojislav Đurić

Komentor:

Doc.dr Marina Atanasković-Marković
