

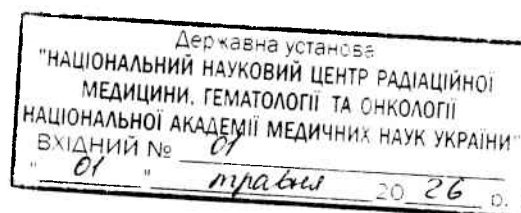
## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **ЗОТОВОЇ ОЛЕНИ ВАСИЛІВНИ**  
**“ДІАГНОСТИЧНЕ ТА ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ХРОМОСОМНИХ**  
**ПЕРЕБУДОВ У ХВОРИХ НА ГОСТРУ ЛЕЙКЕМІЮ ”,**

представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія

### **Актуальність теми дисертації.**

Дисертаційна робота Зотової О. В. присвячена актуальній проблемі сучасної гематології – удосконаленню підходів до діагностики, прогнозування перебігу та підвищенню ефективності медичної допомоги дорослим пацієнтам з гострою лейкемією. На сьогодні у більшості лабораторій України виділення варіантів гострої лейкемії здійснюється переважно на підставі цитологічних критеріїв ФАБ-класифікації або за імунофенотиповими ознаками лейкемічних клітин, визначених за допомогою моноклональних антитіл. Водночас сучасні класифікації ВООЗ неоплазій гемопоетичної та лімфоїдної тканин (2016 р., 2022 р.) передбачають значно ширше впровадження цитогенетичних і молекулярно-генетичних методів діагностики, які враховують найбільш специфічні ознаки патологічних клонів: геном лейкемічних клітин та його аномалії. У цьому контексті перспективним та науково обґрунтованим є дослідження частоти й спектра первинних та додаткових хромосомних аномалій при гострих лейкеміях. Подібні дослідження мають не лише вагомое теоретичне значення, оскільки сприяють поглибленню уявлень про генетичні механізми лейкемогенезу, але й істотну практичну цінність – можливість прогнозування перебігу захворювання, розвитку генетичного рецидиву та оптимізації тактики ведення хворих, що в цілому сприяє підвищенню якості надання медичної допомоги пацієнтам.



Дисертаційна робота виконана відповідно до плану наукових досліджень ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» та безпосередньо пов'язана з НДР: «Дослідити діагностичне і прогностичне значення цитогенетичних та імунологічних маркерів бластних клітин у хворих на гострі лейкемії» (№ Державної реєстрації 0119U002048, термін виконання: 2019-2021 рр.), «Дослідити цитогенетичні, імунологічні та функціональні властивості бластних клітин при варіантах гострих лейкемії з ознаками дозрівання і визначити їхнє клінічне значення» (№ Державної реєстрації 0121U111613, термін виконання: 2022-2024 рр.), «Дослідити особливості цитоморфологічних, імунофенотипових, цитогенетичних та молекулярно-цитогенетичних ознак лейкемічних клітин та факторів пухлинного мікрооточення при BCR/ABL-позитивних гострих лейкеміях та оцінити взаємозв'язок з клінічними проявами, перебігом та відповіддю на лікування» (№ Державної реєстрації 0124U003739, термін виконання: 2025-2027 рр.).

Поставлена мета та завдання у дисертаційній роботі мали комплексне вирішення. Робота загалом характеризується науковою новизною та має вагоме практичне значення.

### **Наукова новизна отриманих результатів.**

Новизна наукових положень і результатів, отриманих особисто здобувачем і представлених до захисту, полягає у з'ясуванні частоти та спектра цитогенетичних аберацій лейкемічних клітин при гострих лейкеміях та їх взаємозв'язку з перебігом хвороби та відповіддю на лікування. На репрезентативному клінічному матеріалі проведено цитогенетичне дослідження (каріотипування та FISH) лейкемічних клітин хворих на різних етапах перебігу лейкемії: при встановленні діагнозу, під час рецидиву лейкемії та в період ремісії. Отримано високі лабораторні показники інформативності класичного цитогенетичного дослідження при гострих лейкеміях, які становили 92 % для гострої мієлоїдної лейкемії (ГМЛ) та 85 % для гострої лімфоїдної лейкемії (ГЛЛ). Представлено популяційну частоту виявлення цитогенетичних аномалій різного характеру окремо у трьох підгрупах хворих: з ГМЛ, ГЛЛ та при

біфенотиповій гострій лейкемії. Описано низку рідкісних хромосомних аберацій, роль яких у патогенезі гострих лейкемій залишається недостатньо вивченою, що підкреслює наукову новизну отриманих результатів. Визначено значення результатів проведеного цитогенетичного аналізу для встановлення діагностичних та прогностичних характеристик захворювання, а також для оптимізації терапевтичної тактики. Встановлено, що прогностично сприятливі перебудови при ГМЛ достовірно частіше спостерігають у молодих пацієнтів, тоді як несприятливі маркери прогнозу – у осіб старшого віку. Показано, що клональна еволюція лейкемічних клітин в разі рецидиву лейкемії проявляється у вигляді появи додаткових аномалій або нових субклонів клітин з множинними структурними та/або кількісними аномаліями.

За результатами досліджень обґрунтовано високу інформативність цитогенетичних і молекулярно-цитогенетичних методів дослідження злоякісних клітин при різних варіантах гострої лейкемії (ГЛ), що має важливе значення на усіх етапах розвитку захворювання, а також для призначення таргетної терапії та прогнозування перебігу хвороби.

### **Практичне значення одержаних результатів.**

Дисертація спрямована на вдосконалення діагностики та прогнозування перебігу гострих лейкемій шляхом комплексного застосування цитогенетичних та молекулярно-цитогенетичних методів дослідження з метою вибору найоптимальнішої тактики лікування. На основі проведених досліджень обґрунтовано та запропоновано алгоритм проведення цитогенетичного та молекулярно-цитогенетичного обстеження хворих. Рекомендовано комплексно застосовувати стандартне цитогенетичного дослідження з диференційним забарвленням хромосом, при якому аналізується весь каріотип, та FISH, при якому проводиться прицільний пошук діагностичних хромосомних порушень, на різних етапах перебігу захворювання: під час встановлення діагнозу для підтвердження, уточнення або диференційної діагностики гострої лейкемії та її підтипів, у випадку рецидиву лейкемії з метою виявлення клональної еволюції та у період ремісії для оцінки мінімальної залишкової хвороби. Доведено, що

результати цитогенетичного моніторингу є одним із основних критеріїв оцінки відповіді на лікування та його своєчасної корекції. Показано, що клональна еволюція у вигляді появи додаткових аномалій або нових субклонів клітин з множинними структурними та/або кількісними змінами каріотипу є об'єктивним критерієм рецидиву та прогресії хвороби.

Результати роботи обґрунтовують доцільність впровадження у практику гематологічних відділень цитогенетичних та молекулярно-цитогенетичних досліджень для покращання діагностики ГЛ, виділення прогностичних груп та оптимізації тактики лікування.

Основні результати досліджень та положення роботи впроваджено у практику консультативної поліклініки та гематологічного відділення ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України», відділення гематології з ліжками інтенсивної терапії КНП «Львівське територіальне медичне об'єднання» «Клінічна лікарня планового лікування, реабілітації та паліативної допомоги» та гематологічного відділення КП «Волинська обласна клінічна лікарня» (загалом представлено 17 актів впровадження).

### **Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій.**

Достовірність отриманих результатів підтверджується достатньою вибіркою та сучасними методами щодо вирішення поставлених завдань.

За період з 2009 р. до 2025 р. проведено цитогенетичне обстеження 237 хворих зі змінами мієлограми та периферичної крові. Діагноз ГЛ підтверджено у 215 хворих на основі результатів клінічного обстеження, гематологічного, цитологічного, цитохімічного, імунофенотипового та цитогенетичного дослідження периферичної крові та/або кісткового мозку. Хворим проведено повне клініко-лабораторне дослідження, стандартне цитогенетичне дослідження (каріотипування). Для детекції генетичного матеріалу застосовано молекулярно-цитогенетичні методи (флуоресцентна *in situ* гібридизація – FISH).

Статистичну обробку результатів цитогенетичного аналізу виконано за допомогою пакетів прикладних програм IBM SPSS Statistics Version 28 (IBM, USA). Функцію загального кумулятивного виживання – overall survival (OS) з першого діагнозу до смерті з будь-якої причини розраховували методом Каплана-Майєра. Порівняння виживання між двома групами здійснювали за допомогою тесту log-rank. Вірогідність отриманих результатів оцінювали на рівні достовірності не менше 95 % ( $p < 0,05$ ).

Отже, слід зазначити що представлені у роботі результати та зроблені на їх основі висновки, можуть бути оцінені як достовірні.

### **Структура дисертації, характеристика розділів, оцінка змісту і завершеність роботи в цілому.**

Дисертаційна робота викладена українською мовою, побудована згідно з нормативними документами відповідно до вимог МОН України. Обсяг роботи становить 213 сторінок комп'ютерного друку, з них обсяг основного тексту 145 сторінок. Робота складається із вступу, огляду літератури, 3 розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення отриманих даних, висновків і практичних рекомендацій, 3 додатків. Перелік використаних джерел наукової літератури складає 160 праць (12 кирилицею та 148 латиницею). Робота ілюстрована 10 таблицями та 31 рисунком.

У *вступі* автор обґрунтовує актуальність обраної теми, вказує на зв'язок роботи з виконуваними під час підготовки дисертаційної роботи темами наукових досліджень, формулює мету та основні завдання дослідження, наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, зазначає свій особистий внесок, наводить матеріали апробації результатів досліджень та перелік публікацій, які висвітлюють науковий доробок.

У *розділі 1 «Огляд літератури»* дисертантка систематизує сучасні дані щодо характеристики, діагностики, прогнозування перебігу та лікування гострої лейкемії. Автором розглядаються особливості цитогенетичного та молекулярно-генетичного профілю лейкемічних клітин у хворих на гостру мієлоїдну та гостру лімфобластну лейкемію. Проведено аналіз клональної

еволюції при гострій лейкемії та її зв'язок з перебігом хвороби. Розділ складається з п'яти підрозділів. Як висновок зазначається, що з урахуванням індивідуалізації лікувальної тактики, цитогенетичні дослідження потребують ширшого впровадження у практику діагностики та лікування хворих на ГЛ в Україні.

Ці аспекти відображено при формулюванні мети та завдань дисертаційної роботи.

У розділі 2 «Матеріали та методи дослідження» дисертантка обґрунтовує вибір напрямку досліджень, що полягає у виявленні хромосомних та молекулярно-цитогенетичних змін в клітинах кісткового мозку та/або периферичної крові, їх діагностичне і прогностичне значення при встановлених варіантах і підтипах ГЛ на різних етапах лікування захворювання.

За період з 2009 р. до 2025 р. проведено цитогенетичне обстеження 237 хворих зі змінами мієлограми та периферичної крові, які давали підставу запідозрити ГЛ. Діагноз ГЛ підтверджено у 215 хворих на основі результатів клініко-гематологічного, цитологічного обстеження, імунофенотипового та цитогенетичного дослідження периферичної крові та/або кісткового мозку.

В результаті проведених досліджень було сформовано групу для спостережень, яка включала 200 хворих з ГЛ. Серед них: 137 випадків – ГМЛ, 57 – ГЛЛ та 6 – біфенотипова ГЛ. Хворих на ГМЛ розділено на варіанти за ФАБ-класифікацією. Усі пацієнти розподілені за статтю, і віднесені до 5 вікових груп.

Пацієнтам проводилися загальні клініко-лабораторні дослідження. Додаткові дослідження включали цитогенетичне дослідження (каріотипування) та молекулярно-цитогенетичні методи (флуоресцентна *in situ* гібридизація – FISH). В матеріалах розділу детально охарактеризовані точкові і центромерні флуоресцентні мітки (Cytocell aquarius, Великобританія), що використовувалися для ідентифікації генетичного матеріалу.

Статистичну обробку результатів цитогенетичного аналізу виконано за допомогою пакетів прикладних програм IBM SPSS Statistics Version 28 (IBM, USA). Функцію загального кумулятивного виживання – overall survival (OS)

розраховано методом Каплана-Майера. Порівняння виживання між двома групами здійснено за допомогою тесту log-rank.

Методи, які застосовувались у роботі, відповідають завданням поставленим автором.

У розділі 3 «Хромосомні перебудови лейкемічних клітин при гострій мієлоїдній лейкемії» наведено результати первинних цитогенетичних досліджень при ГМЛ. Встановлено асоційовані з ГМЛ хромосомні аномалії різного характеру у 59 % хворих. Найчастішими цитогенетичними перебудовами при ГМЛ були транслокація  $t(15;17)(q22;q21)$  та/або химерний ген *PML/RARA*, які спостерігали у 12 % хворих. Клональної еволюції лейкемічних клітин у разі рецидиву ГМЛ в обстежених хворих не виявлено.

На основі цитогенетичного аналізу хворих на ГМЛ розподілено на групи ризику: група хворих з несприятливими цитогенетичними маркерами (21 %) (перебудови  $3q21q26$ ,  $t(9;22)(q34;q11)$ , ген *BCR/ABL1*,  $del(5q)$ , -7, комплексний каріотип ( $\geq 3$  аномалій)), група середнього ризику без прогностично значущих маркерів (58 %) (рідкісні або нетипові аномалії, нормальний каріотип) і група із сприятливими факторами прогнозу (21 %) ( $t(15;17)(q22;q21)$ , ген *PML/RARA*,  $t(8;21)(q22;q22)$ , ген *RUNX1/RUNX1T1*,  $inv(16)(p13q22)$ , ген *CBFB/MYH11*). Встановлено, що прогностично сприятливі зміни при ГМЛ достовірно частіше спостерігаються у молодих осіб, тоді як несприятливі маркери прогнозу – у осіб старшого віку (критерій Пірсона;  $\chi^2$ -квадрат = 8,910;  $p < 0,01$ ). Визначено медіану виживання пацієнтів з ГМЛ, що становила:  $(1,0 \pm 0,3)$  місяців для хворих із несприятливими цитогенетичними маркерами,  $(5,0 \pm 1,7)$  місяців для пацієнтів з маркерами проміжного прогнозу та  $(15,0 \pm 3,7)$  місяців для пацієнтів із сприятливими цитогенетичними факторами. Підтверджено високу інформативність цитогенетичних методів дослідження під час діагностики та прогнозування перебігу ГМЛ, що свідчить про необхідність їх включення до переліку обов'язкових методів обстеження хворих на усіх етапах захворювання.

У розділі 4 «Хромосомні перебудови лейкемічних клітин при гострій лімфобластній лейкемії». Встановлено у 69 % хворих асоційовані з ГЛЛ хромосомні аномалії різного характеру. Найчастішими цитогенетичними перебудовами при ГЛЛ були філадельфійська хромосома (Ph), утворена в результаті транслокації  $t(9;22)(q34;q11)$ , та/або химерний ген *BCR/ABL1*, які спостерігали у 20 % хворих. Виявлено клональну еволюцію лейкемічних клітин у 56 % обстежених пацієнтів в разі рецидиву ГЛЛ у вигляді появи додаткових аномалій або нових субклонів клітин з множинними структурними та/або кількісними змінами каріотипу. Класифіковано хворих на ГЛЛ на основі цитогенетичного аналізу на групи ризику: *група хворих з несприятливими цитогенетичними маркерами* (35 %) ( $t(9;22)(q34;q11)$ , ген *BCR/ABL1*,  $t(4;11)(q21;q23)$ , гіподиплоїдний набір хромосом, комплексний каріотип ( $\geq 3$  аномалій)), *група середнього ризику без прогностично значущих маркерів* (57 %) (рідкісні або нетипові аномалії, нормальний каріотип) і *група із сприятливими факторами прогнозу* (8 %) (висока гіпердиплоїдія). Медіана виживання пацієнтів з ГЛЛ становила:  $(5,0 \pm 2,8)$  місяців для хворих із несприятливими цитогенетичними маркерами,  $(9,0 \pm 2,7)$  місяців для пацієнтів з маркерами проміжного прогнозу та  $(25,0 \pm 10,8)$  місяців для пацієнтів із сприятливими цитогенетичними факторами. Підтверджено високу інформативність цитогенетичних методів дослідження під час діагностики та прогнозування перебігу ГЛЛ, що свідчить про доцільність їх включення до переліку обов'язкових методів обстеження хворих на усіх етапах перебігу захворювання.

**Розділ 5 «Хромосомні перебудови лейкемічних клітин при гострій біфенотиповій лейкемії».** Представлені матеріали розділу свідчать, що у 67 % хворих визначаються асоційовані з біфенотиповою ГЛ хромосомні аномалії різного характеру, які включали  $t(9;22)(q34;q11)$ , ген *BCR/ABL1*,  $t(8;21)(q22;q22)$ , ген *RUNX1/RUNX1T1* та інші. Виявлено клональну еволюцію лейкемічних клітин у всіх обстежених хворих в разі рецидиву біфенотипової ГЛ у вигляді появи нових субклонів клітин з додатковими структурними та/або кількісними змінами каріотипу. Класифіковано хворих на біфенотипову ГЛ на

основі цитогенетичного аналізу на групи ризику: *група хворих з несприятливими цитогенетичними маркерами* (17 %) (t(9;22)(q34;q11), ген *BCR/ABL1*), *група середнього ризику без прогностично значущих маркерів* (66 %) (рідкісні або нетипові аномалії, нормальний каріотип) і *група із сприятливими факторами прогнозу* (17 %) (t(8;21)(q22;q22), ген *RUNX1/RUNX1T1*). Медіана виживання пацієнтів з біфенотиповою ГЛ становила (2,0 ± 2,5) місяців.

Чисельні фотографії, котрі ілюструють результати досліджень, представлено у відповідних розділах дисертаційної роботи.

**«Аналіз і узагальнення результатів досліджень»** дозволяє констатувати, що проведені досліджень є ґрунтовними. В результаті виконання роботи було розроблено алгоритм цитогенетичного (каріотипування) та молекулярно-цитогенетичного (FISH) обстеження хворих на ГЛ. Розроблено рекомендації щодо доцільності проведення комплексного (стандартне та молекулярно-цитогенетичне) дослідження на різних етапах перебігу ГЛ: під час встановлення діагнозу для підтвердження, уточнення або диференційної діагностики ГЛ та її підтипів, у випадку рецидиву лейкемії з метою виявлення клональної еволюції та у період ремісії для оцінки мінімальної залишкової хвороби. На основі результатів проведеного цитогенетичного аналізу пацієнтів з ГМЛ, які перебували у гострій стадії захворювання (135 випадків), в процесі роботи застосовано рекомендації European LeukemiaNet щодо розподілу пацієнтів відповідно до груп ризику перебігу хвороби. Визначено прогностичні маркери перебігу ГМЛ, ГЛЛ та при біфенотиповій ГЛ. Таким чином, за результатами роботи підтверджено високу інформативність цитогенетичних методів дослідження під час діагностики та прогнозування перебігу ГЛ, що свідчить про необхідність їх включення до переліку обов'язкових методів обстеження хворих на усіх етапах захворювання: при встановленні діагнозу, під час ремісії хвороби та у випадку рецидиву.

**Висновки** в кількості десяти чітко сформульовані, відповідають меті й поставленим завданням, свідчать про значимість роботи для гематології.

**Повнота викладу основних наукових положень, висновків, практичних рекомендацій в опублікованих роботах.**

За матеріалами дисертації опубліковано 45 наукових праць: 9 статей у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 31 тези доповідей у матеріалах конгресів, з'їздів, конференцій – 9 з яких у зарубіжних виданнях, та 5 наукових нововведень.

**Ідентичність змісту автореферату і основних наукових положень дисертації.**

Автореферат написано у відповідності до вимог МОН України. Матеріали автореферату і дисертаційної роботи є ідентичними. В авторефераті стисло представлено основний зміст всіх розділів дисертації, що дозволяє сформулювати уявлення про роботу в цілому.

**Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради.**

Дисертація цілком відповідає профілю спеціалізованої вченої ради 14.01.31- гематологія та трансфузіологія при ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини, гематології та онкології НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.31- гематологія та трансфузіологія.

**Зауваження, побажання, дискусійні питання.**

Викладені матеріали та сформульовані за результатами їх аналізу висновки є ґрунтовними та достовірними. Принципових зауважень до роботи немає.

У рамках дискусії хотілося б отримати відповіді на наступні питання:

1. Які нові кількісні та структурні аномалії хромосом Ви виявили при ГМЛ, ГЛЛ та біфенотиповій ГЛ ?
2. Які морфологічні підтипи ГМЛ Ви фіксували при наявності транслокації  $t(8;21)(q22;q22)$ , інверсії  $inv(16)(p13q22)$ , а також ГЛЛ при наявності транслокації  $t(9;22)(q34;q11)$ ?

**ВИСНОВОК:** теоретичне опрацювання, ґрунтовність досліджень, наукова новизна результатів свідчать про те, що дисертаційна робота **Зотової Олени Василівни** «**Діагностичне та прогностичне значення хромосомних перебудов у хворих на гостру лейкемію**» є самостійною, завершеною науковою працею, спрямованою на вирішення актуальної проблеми – визначення частоти, діагностичного та прогностичного значення спектра цитогенетичних аномалій лейкемічних клітин при гострих лейкеміях у дорослих і їх взаємозв’язку з перебігом хвороби та відповіддю на лікування. Дисертаційна робота відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24.07.2013 р., а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.31- гематологія та трансфузіологія.

Доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник,  
завідувач лабораторії мікробіології  
та проблем антиінфекційного імунітету  
Інституту гематології та трансфузіології  
ННЦРМГО



А.П. Рибальська

Державна установа  
"НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ  
МЕДИЦИНИ, ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ОНКОЛОГІЇ  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"  
Підпис засвідчую, учений секретар О.В.К.  
29 " Квітень 2026 р.



*С.Т. Тарасюк*

Державна установа  
НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ  
МЕДИЦИНИ, ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ОНКОЛОГІЇ  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ  
Свідоцтво № 01  
01 " травень 2026 р.