

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію

Зотової Олени Василівни

на тему: «Діагностичне та прогностичне значення хромосомних перебудов у хворих на гостру лейкемію», подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія

Актуальність теми дисертації

Актуальність теми дисертаційного дослідження Зотової Олени Василівни, присвяченого детальному аналізу діагностичної та прогностичної значущості хромосомних перебудов у дорослих хворих на гостру лейкемію, не викликає сумнівів, оскільки робота спрямована на підвищення ефективності діагностики та прогнозування перебігу онкогематологічної патології. Незважаючи на досить значний прогрес в медичній науці в останні роки, гострі лейкемії й надалі залишаються однією з найбільш складних та соціально значущих проблем сучасної гематології, що зумовлено їх гетерогенністю, агресивним перебігом і варіабельною відповіддю на терапію. Визначення цитогенетичних та молекулярно-генетичних порушень відіграє ключову роль у діагностиці, стратифікації ризику та прогнозуванні перебігу захворювання. У цьому контексті вивчення хромосомних аномалій та їх прогностичного значення є надзвичайно актуальним і відповідає сучасним напрямкам розвитку персоналізованої медицини. Вагомим кроком у вдосконаленні діагностичних підходів став перегляд класифікації ВООЗ гематолімфоїдних пухлин в межах четвертого (2016 р.) та п'ятого (2022 р.) видань, які суттєво змінили принципи систематизації гострих лейкемій, акцентувавши увагу на їх генетичних характеристиках. Зазначені оновлення підкреслюють провідну роль цитогенетичного та молекулярно-генетичного аналізу в клінічній практиці та визначають високу актуальність дослідження хромосомних перебудов у хворих

Державна установа
"НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ
МЕДИЦИНИ, ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ОНКОЛОГІЇ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"
ВХІДНИЙ № 01 " травня 2026

на гостру лейкемію з метою оптимізації діагностики, прогнозування перебігу та вибору терапевтичної тактики.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Виконання дисертаційної роботи Зотової О.В. базувалося на результатах наукових досліджень лабораторії імунології та генетики неоплазій крові ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» у межах тематичних 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 лейкемій 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.).

Оцінка змісту та завершеності дисертації

Дисертаційна робота викладена на 213 сторінках машинописного тексту, з яких основний обсяг становить 145 сторінок, і має чітку й логічну структуру. Вона включає анотацію, вступ, три розділи власних досліджень, розділ аналізу та узагальнення результатів, загальні висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, а також три додатки. Список використаних джерел налічує 160 найменувань, з яких 12 кирилицею та 148 латиницею. Матеріал роботи належним чином проілюстрований 10 таблицями та 31 рисунком, які доповнюють текст і забезпечують наочність викладених результатів, сприяючи кращому розумінню отриманих даних.

Дисертація є завершеною науковою роботою, у якій досліджується діагностичне та прогностичне значення хромосомних перебудов у дорослих хворих на гострі лейкемії на різних етапах перебігу захворювання.

Анотація дисертації подана державною та англійською мовами. У ній стисло представлено основні результати дослідження, зазначено його мету, наукову новизну та практичне значення, наведено ключові слова та перелік публікацій здобувача, які відображають результати наукової роботи за темою дисертації.

У **вступі** всебічно обґрунтовано актуальність обраної наукової проблеми з урахуванням сучасних підходів до діагностики та лікування гострої лейкемії, чітко сформульовано мету та завдання дослідження, визначено його об'єкт і предмет, охарактеризовано методи дослідження, розкрито наукову новизну та практичну значущість отриманих результатів, а також зазначено особистий внесок здобувача. Крім того, у вступі наведено відомості про апробацію основних положень дисертаційної роботи на наукових конгресах, з'їздах, симпозіумах, а також подано інформацію про публікації автора, структуру та обсяг роботи.

У **першому розділі дисертації**, який є оглядом літератури, подано ґрунтовний огляд вітчизняної та зарубіжної наукової літератури, присвяченої сучасним уявленням про етіологію, патогенез, класифікацію та клінічні особливості гострих лейкемій. Основну увагу зосереджено на ролі цитогенетичних і молекулярно-генетичних порушень у формуванні різних варіантів та підтипів захворювання, їх діагностичному та прогностичному значенні. Детально проаналізовано еволюцію підходів до класифікації гострих лейкемій відповідно до рекомендацій ВООЗ із акцентом на генетичні характеристики лейкоцитів.

У **другому розділі «Матеріал і методи досліджень»** наведено характеристику клінічного матеріалу 200 пацієнтів з гострою лейкемією, представлено критерії відбору хворих, їх клініко-демографічні особливості, а також детально описано методи дослідження, використані для досягнення

поставленої мети. Серед них: загальні клініко-лабораторні, спеціальні цитогенетичні та статистичні методи. У розділі детально описана методика стандартного цитогенетичного дослідження з використанням GTG-фарбування та молекулярно-цитогенетичного дослідження методом флуоресцентної *in situ* гібридизації (FISH) із застосуванням специфічних ДНК-зондів, перелік та характеристики яких наведено у відповідних підрозділах роботи. Статистичну обробку результатів цитогенетичного аналізу виконано з використанням пакету прикладних програм IBM SPSS Statistics Version 28 (IBM, USA).

У трьох розділах власних досліджень дисертації представлено популяційну частоту та спектр виявлених хромосомних перебудов у хворих на гостру лейкемію, а також ґрунтовно проаналізовано їх діагностичне та прогностичне значення на різних етапах перебігу захворювання: при встановленні діагнозу, під час рецидиву лейкемії та в період ремісії. Виклад матеріалу структуровано за нозологічним принципом. Результати проведеного аналізу наведено окремо у трьох групах пацієнтів: хворих на гостру мієлоїдну лейкемію (ГМЛ), хворих на гостру лімфобластну лейкемію (ГЛЛ) та пацієнтів із біфенотиповою гострою лейкемією. Кожній нозології присвячений окремий розділ дисертації. Зазначені розділи є надзвичайно насиченими фактичним матеріалом, оформленим у вигляді об'ємних таблиць і численних рисунків, що переконливо свідчать про значний обсяг виконаної дисертантом наукової роботи та безсумнівно викликатиме інтерес у дослідників, які працюють у царині вивчення генетичного профілю різних варіантів та підтипів гострої лейкемії.

При ГМЛ цитогенетичні перебудови встановлено у 59 % хворих. Серед виявлених змін були: $t(15;17)(q22;q21)$, ген *PML/RARA*, $t(8;21)(q22;q22)$, ген *RUNX1/RUNX1T1*, $inv(16)(p13q22)$, ген *CBFB/MYH11*, перебудови $11q23/KMT2A$, аномалії $3q21q26$, $t(9;22)(q34;q11)$, ген *BCR/ABL1*, $del(9)(q22)$, $del(17)(p11)$, +8, -5, -7, -Y, моносомний каріотип та інші. Найчастішими змінами були транслокація $t(15;17)(q22;q21)$ та/або відповідний химерний ген *PML/RARA*, які спостерігали у 12 % пацієнтів.

При ГЛЛ цитогенетичні аномалії виявлено у 69 % хворих, зокрема: $t(9;22)(q34;q11)$, ген *BCR/ABL1*, $t(4;11)(q21;q23)$ та інші перебудови $11q23/KMT2A$, $del(17)(p11)$, +8, +17, гіпер- та гіподиплоїдний набори хромосом, інші. Найчастішими змінами були транслокація $t(9;22)(q34;q11)$ та/або відповідний химерний ген *BCR/ABL1*, які спостерігали у 20 % пацієнтів. Крім того, в 56 % обстежених хворих під час рецидиву ГЛЛ підтверджено клональну еволюцію лейкемічних клітин, що проявлялася появою додаткових хромосомних аномалій або ж формуванням нових субклонів із множинними структурними та/або кількісними змінами каріотипу.

У пацієнтів з біфенотиповою гострою лейкемією цитогенетичні аберації зафіксовано у 67 % хворих. Серед них: $t(9;22)(q34;q11)$, ген *BCR/ABL1*, $t(8;21)(q22;q22)$, ген *RUNX1/RUNX1T1* та інші. Клональну еволюцію лейкемічних клітин під час рецидиву цієї форми лейкемії спостерігали в усіх обстежених хворих, що свідчить про високу динамічність та генетичну нестабільність пухлинного клону.

Автор встановила генетичний підтип гострої лейкемії згідно з класифікацією ВООЗ та переконливо продемонструвала вплив різних типів хромосомних аномалій на перебіг захворювання, побудувавши криві виживання за методом Каплана-Майєра. Різниця у виживанні хворих на ГМЛ різних прогностичних груп була статистично вірогідною (log-rank тест; Хі-квадрат = 27,080, $p = 0,0001$), тоді як пацієнтів з ГЛЛ вона була на межі статистичної достовірності (log-rank тест; Хі-квадрат = 3,603, $p = 0,058$).

Представлений матеріал подано логічно та послідовно, із застосуванням сучасних методів статистичної обробки даних, що забезпечує високу достовірність отриманих результатів і підтверджує їх практичну цінність.

Заключний розділ «Аналіз та узагальнення результатів» викладений в дискусійно-порівняльному стилі з даними інших авторів, він відображає професійну зрілість здобувача, а також демонструє перспективність подальших досліджень у цьому напрямі. У розділі основну увагу зосереджено на застосуванні цитогенетичних і молекулярно-цитогенетичних методів у

діагностиці та прогнозуванні перебігу гострої лейкемії. Показано їх високу інформативність для виявлення хромосомних перебудов, оцінки клональної еволюції та стратифікації хворих за групами прогностичного ризику. Використання зазначених методів дозволило уточнити біологічні особливості лейкемічного клону та простежити його динаміку в процесі лікування. Отримані результати підтверджують доцільність комплексного цитогенетичного підходу для підвищення точності діагностики, прогнозування перебігу захворювання та оптимізації терапевтичної тактики.

Висновки та практичні рекомендації є логічним узагальненням отриманих результатів дослідження, повністю відповідають поставленій меті та завданням дисертаційної роботи та ґрунтуються на всебічному аналізі фактичного матеріалу. Сформульовані висновки відображають основні наукові положення роботи, а практичні рекомендації мають прикладний характер та можуть бути використані у клінічній практиці.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, їх достовірність, новизна та практична цінність

Достовірність отриманих результатів дослідження забезпечується достатнім обсягом клінічного матеріалу (200 хворих), застосуванням сучасних методів цитогенетичного аналізу, зокрема стандартного цитогенетичного дослідження (каріотипування) та флуоресцентної *in situ* гібридизації (FISH) із використанням специфічних флуоресцентних зондів, спрямованих на виявлення клінічно значущих хромосомних змін, а також коректною статистичною обробкою даних. Дисертант обрала адекватні статистичні методи, що відповідають меті та завданням дослідження й дозволяють вважати наведені результати науково обґрунтованими та достовірними.

Важливо відзначити, що в процесі експериментальної роботи автор досягла високого рівня лабораторних показників інформативності класичного цитогенетичного дослідження при гострих лейкеміях, який становив 92 % для ГМЛ та 85 % для ГЛЛ.

Наукові положення та висновки дисертації логічно випливають з отриманих результатів, є внутрішньо узгодженими та підтверджуються наведеними фактичними даними. Запропоновані автором узагальнення та рекомендації мають наукове обґрунтування та можуть бути використані в клінічній практиці та подальших наукових дослідженнях.

Наукова новизна роботи полягає у тому, що на обширному клінічному матеріалі автором встановлено популяційну частоту та спектр хромосомних перебудов лейкоциічних клітин окремо у трьох підгрупах хворих (ГМЛ, ГЛЛ та біфенотипова форма гострої лейкоциі) на різних етапах перебігу захворювання: при встановленні діагнозу, під час рецидиву та в період ремісії. Визначено їх діагностичне та прогностичне значення з метою оптимізації терапевтичної тактики. У роботі описано низку рідкісних хромосомних аберацій, роль яких до кінця не з'ясована. Показано, що прогностично сприятливі перебудови при ГМЛ частіше зустрічаються у молодших пацієнтів, тоді як несприятливі маркери прогнозу переважають у осіб старшого віку (критерій Пірсона; χ^2 -квадрат = 8,910; $p < 0,01$). Встановлено, що клональна еволюція лейкоциічних клітин у разі рецидиву проявляється появою додаткових аномалій або формуванням нових субклонів із множинними хромосомними змінами. Отримані результати розширюють сучасні уявлення про роль цитогенетичних методів дослідження у діагностиці та прогнозуванні перебігу гострої лейкоциі.

Практична цінність роботи полягає у можливості використання отриманих результатів у клінічній практиці для удосконалення діагностичних алгоритмів, стратифікації хворих за групами ризику, оптимізації вибору терапевтичної тактики. Результати дисертаційної роботи впроваджено в 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», що зафіксовано у 17 актах впровадження.

Повнота викладу результатів дисертації в публікаціях

Загалом за темою дисертації автором опубліковано 45 наукових праць, серед яких 9 статей у фахових виданнях, 31 тези доповідей на матеріалах конгресів, з'їздів, конференцій та 5 наукових нововведень. Публікації повністю відображають основні результати дослідження, підтверджують наукову новизну та практичну значущість роботи, демонструють активну наукову діяльність здобувача, що дозволяє рекомендувати дисертаційну роботу до захисту.

Зауваження та дискусійні положення

Принципових зауважень до змісту та оформлення дисертаційної роботи немає. Є окремі зауваження та питання, які носять дискусійний характер і не знижують загальної високої оцінки роботи, зокрема:

1. З чим може бути пов'язано те, що показник неінформативності класичної цитогенетики в дослідженні для гострої мієлоїдної лейкемії виявився меншим – 8%, ніж для гострої лімфобластної лейкемії (15%)?
2. В дослідженні використано різний дизайн локус-специфічних та центромерних проб для FISH дослідження, зокрема з дизайном «два колори – два злитих сигнали», «розрив сигналів», «кількісні локус-специфічні та центромерні проби», але не вказано, які кількості/відсотки клітин з аномальними патернами гібридизації використовувалися в якості порогових для класифікації випадків на позитивні та негативні щодо досліджуваних аномалій?
3. З чим може бути пов'язана коротка медіана виживання пацієнтів з ГМЛ, яка становила лише $3,0 \pm 1,0$ місяців, для ГЛЛ, яка становила лише $11,0 \pm 2,8$ місяців, та для біфенотипової ГЛ, яка становила лише $2,0 \pm 2,5$ місяців в цьому дослідженні?
4. Автором рекомендовано комплексно застосовувати стандартне цитогенетичне (каріотипування) та молекулярно-цитогенетичне (FISH) дослідження для оцінки мінімальної залишкової хвороби у період ремісії у

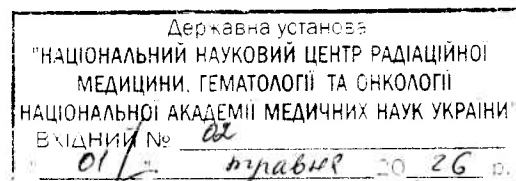
хворих на гостру лейкемію, проте це виглядає суперечливим, бо роздільна здатність цих методів набагато менша, ніж у проточної цитометрії та кількісної ПЛР. Можливо є ситуації коли цитогенетичні та молекулярно-цитогенетичні дослідження переважають імунофенотипування та молекулярно-генетичні методики?

Висновок

Дисертація Зотової Олени Василівни на тему «Діагностичне та прогностичне значення хромосомних перебудов у хворих на гостру лейкемію» є завершеним самостійним науковим дослідженням, що має важливе теоретичне та практичне значення. Робота вирізняється повнотою аналізу, широким обсягом клінічного матеріалу, застосуванням сучасних цитогенетичних та молекулярно-цитогенетичних методів, високою достовірністю отриманих результатів та обґрунтованістю висновків. За змістом, обсягом, рівнем наукової новизни та практичної цінності дисертація відповідає вимогам на здобуття наукового ступеня кандидата наук відповідно до пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 18 серпня 2015 р. та № 1159 від 30 грудня 2015 р.), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія.

Офіційний опонент:

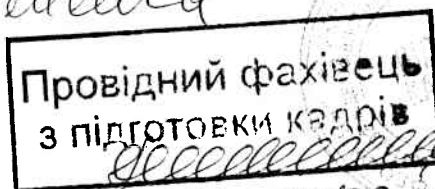
доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України,
керівник Центру гематології та
трансплантації кісткового мозку
КЛ «Феофанія» ДУС



[Handwritten signature]

Сергій КЛИМЕНКО

Відгук: С. Климченко
засвідчує:



[Handwritten signature]