

## РЕЦЕНЗІЯ

кандидата медичних наук, доцента Литвин Галини Орестівни на дисертацію Винницької О. А. «Особливості мутаційного статусу при гострій лімфобластній лейкемії в дітей», подану до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 228 «Педіатрія» (22 – охорона здоров'я).

### **Актуальність теми.**

На актуальність дисертаційної роботи вказує те, що незважаючи на удосконалення діагностичних, прогностичних і терапевтичних підходів до проблеми гострої лімфобластної лейкемії (ГЛЛ), ця хвороба залишається найпоширенішою серед онкологічних захворювань у дитячій популяції. Так, серед злоякісних новоутворень кровотворної і лімфоїдної тканин, що займають половину усіх злоякісних пухлин, на лейкемію в дитячому віці припадає 38–40 %. А це складає більш ніж 1/3 нових випадків пухлинних захворювань, які виникають щорічно в дітей. Окрім цього, після використання сучасних можливостей лікування, у 10–20 % дітей реєструються рецидиви ГЛЛ. Такі випадки потребують вирішення питання пошуку прогностичних маркерів перебігу хвороби та модифікації терапії з персоналізованим підходом до пацієнта.

Походження лейкемічного клону при ГЛЛ відбувається з лімфоїдних клітин-попередників В- чи Т-лімфоцитів. Відтак цитологічні та цитохімічні ознаки бластних клітин можуть лежати в основі діагностики й класифікації гострих лейкозів. Важливу роль у моніторингу наявності лейкозних лімфобластів відіграє імунофенотипування кісткового мозку, яке не тільки дасть можливість з'ясувати походження неопластичного процесу, але й дозволить проаналізувати ефективність застосованої цитостатичної хіміотерапії. Тому проведення молекулярно-генетичної діагностики ГЛЛ у дітей є досить актуальним, бо дає змогу провести моніторинг лікувальної хіміотерапії та на ранньому етапі прогнозувати рецидиви захворювання. Розуміння молекулярно-генетичних механізмів участі химерних протеїнів, що кодуються гібридними генами AF4/MLL, BCR/ABL, E2A/PBX1 та TEL/AML у розвитку ГЛЛ дозволить встановити ступінь злоякісності процесу, виявити групу ризику щодо рецидивів та оптимізувати хіміотерапевтичні підходи.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом наукових досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького та складовою частиною науково-дослідної тем кафедри педіатрії і неонатології факультету післядипломної освіти «Характеристика перинатальної патології, імунopatологічних станів, впливу екзогенних чинників на стан здоров'я і якість життя дітей з різних груп ризику» (номер державної реєстрації: 0114U000108), «Вивчення впливу екологосоціальних та мікросоціальних чинників на розвиток патологічного стану у дітей шляхом удосконалення методів ранньої діагностики лікування та профілактики.» (№ державної реєстрації 0119U100141)

**Наукова новизна одержаних результатів.** Результати дисертаційної роботи містять багато елементів наукової новизни. Зокрема, автором встановлено кореляційний зв'язок між імунотиповим профілем бластних клітин та формою ГЛЛ у дітей, що дозволить спрогнозувати перебіг захворювання. Продемонстровано доцільність враховувати MRD як незалежного несприятливого прогностичного фактору розвитку рецидиву ГЛЛ. Встановлено, що розвиток рецидиву вищий у тих дітей із ГЛЛ, у яких після завершення цитостатичної терапії рівень MRD на 15 день захворювання складав 1 % і більше, порівняно з пацієнтами, чий рівень MRD був менше 1 % – у цієї групи пацієнтів спостерігалася повна ремісія.

Доведено, що в пацієнтів із рецидивом захворювання наявні імунотипові аберації, не властиві нормальним гемопоетичним клітинам. Асинхронна експресія маркерів диференціювання спостерігалась у більшості випадків дітей із рецидивом ГЛЛ, що необхідно враховувати при моніторингу хворих під час та після проведення цитостатичної хіміотерапії.

Аналіз результатів досліджень показав, що до лікування ГЛЛ на високому рівні виявлена експресія онкогена TEL/AML. Після проведення ALLIC BFM-2009 хіміотерапії в пацієнтів із рецидивами цей онкоген не ідентифікується, але він виявлений у 24 % пацієнтів із повною ремісією і його можна вважати цінним маркером для діагностики безпідйного виживання при ГЛЛ.

Простежено значне зниження експресії онкогена BCR/ABL під час повної ремісії захворювання, що свідчило про ефективність вибраної терапії для досліджуваної групи хворих. Отримані дані необхідно враховувати при розробці методів моніторингу індивідуальної відповіді пацієнта на застосовану терапію. Показано, що високий рівень експресії онкогена BCR/ABL у пацієнтів із рецидивами є наслідком мутацій у химерному гені, що свідчило про резистентність клітин пухлинного клону до дії цитостатиків.

**Практичне значення одержаних результатів.** Запропоновано та обґрунтовано доцільність використання у практичному менеджменті та наукових дослідженнях генних гібридів за допомогою FISH-дослідження, а також рівня експресії генів за допомогою ПЛР. Це дає змогу повноцінно надати молекулярно-генетичну характеристику бластних клітин при ГЛЛ у дітей. Обґрунтовано присутність генетичних транслокацій, які слугують як прогностичний критерій виникнення рецидиву ГЛЛ у дітей.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Дисертаційна робота виконана на сучасному науково-методичному рівні і ґрунтується на достатньому клінічному матеріалі, на науковому аналізі результатів загальних лабораторних, інструментальних, цитологічних, імунологічних, алергологічних, молекулярно-генетичних, соціологічних досліджень і статистичній обробці отриманих результатів. Методи досліджень, що використані в роботі, є сучасними, інформативними та адекватними до поставлених завдань. Статистична обробка наукового матеріалу проведена коректно, підтверджена достовірність отриманих результатів. Назва дисертації цілком відповідає її змісту. Головні наукові положення, висновки і практичні рекомендації, сформульовані у дисертації, достатньо обґрунтовані, ґрунтуються на фактичних даних, є логічним підсумком отриманих результатів дослідження.

#### **Особистий внесок здобувача.**

Дисертантом самостійно проведено патентний пошук та аналіз даних літератури, обґрунтовано актуальність обраної теми, сформульовано мету,

визначено завдання, а також підібрано і обґрунтовано вибір методів досліджень та їх обсяг для вирішення поставлених завдань. Створено, виходячи із завдань дослідження, заповнено та проаналізовано індивідуальні карти пацієнтів, базу даних результатів обстеження хворих. Автором самостійно виконано статистичну обробку, аналіз отриманих результатів, написано усі розділи дисертації та підготовлено наукові праці до друку. Формулювання основних положень дисертації, висновків, узагальнення даних проведено спільно з керівником.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертація викладена на 162 сторінках машинописного тексту, містить вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, 2 розділи власних досліджень, узагальнення отриманих результатів, висновки, додатки та список використаних джерел.

**Недоліки дисертації щодо її змісту і оформлення.** Оцінюючи дисертаційну роботу Винницької О. А. позитивно, слід зауважити, що до дисертантки є окремі зауваження, рекомендації та запитання. Однак, це не принижує важливого наукового та практичного значення дисертаційної роботи.

**Зауваження та рекомендації:**

- у розділі «Вступ» - подано дані ВООЗ щодо поширеності ГЛЛ за 2000 рік. Доцільно оновити ці статистичні дані хоча б за 5-10 останніх років. У поданні наукової новизни і практичному значенні отриманих результатів необхідно перефразувати речення для кращого сприйняття матеріалу.
- у розділі 1 «Огляд літератури» зустрічається низка стилістичних і граматичних помилок. У підрозділі 1.2 не повністю зазначені посилання на літературу, хоча речення починається «Клініцисти вважають». Також дуже детально описано дані І.І. Балашевої стосовно залежності комбінації клінічних проявів ГЛЛ від конституційного типу. Рекомендую скоротити цей опис, оскільки це не було предметом досліджень автора. Не повністю зрозуміло у чому різниця між клітинним імунітетом при первинній атаці ГЛЛ і рецидиві (опис однаковий!). Окрім цього, вартує цитотоксичні лімфоцити позначити маркером CD8+ (аналогічно до CD4+). У підрозділі

«Комплексний підхід до стратифікації дітей із ГЛЛ» рекомендовано вставити слово «прогнозу», оскільки в тексті нижче описана саме система стратифікації прогнозу ГЛЛ у дітей. Усі таблиці в огляді літератури підписані автором, але невідомо з яких джерел літератури чи документів вони брались? Наприклад, «Морфологічна класифікація (FAB) ГЛЛ – джерело? Логічний висновок з огляду літератури потребує доопрацювання, оскільки чітко не прослідковуються питання, що залишились невирішеними і визначення конкретного місця дисертанта у розв’язанні проблеми (завдання).

- у розділі 2 «Матеріали й методи дослідження». Підрозділ 2.1 – характеристика хворих – немає погодження з етичним комітетом (№ протоколу) і вимогами Гельсінської декларації прав людини, підписання інформованих згод батьків на участь у дослідженні дітей. Не лише у цьому розділі, але й по більшості тексту мінімальна резидуальна хвороба дублюється повна назва і в аббревіатурі - бажано однаково MRD, а відтак подати на початку роботи англійською мовою. Рисунки з протоколами IA, IB і усі блоки терапії потрібно підписати
- резюме розділу 3 більше нагадує огляд літератури. Якщо це цитування з зазначенням джерел літератури, то потрібно уточнити - Ваші результати підтверджують чи спрощують попередні дослідження?
- у розділі 4 автор має чітко висловлюватись у назвах: де прописано ген, а де транслокація. Зокрема, гени ETV6, PAX5, а транслокації t(9;22)(q34;q11), де вказується конкретне місце в хромосомі та її номер, де є ця транслокація.
- в абзаці «Противухлинна активність цитостатичних засобів проявляється у впливі на клітини, які активно діляться внаслідок пошкодження різними способами ДНК. При цьому нерідко проявляється вплив і на здорові клітини, які активно проліферують. Ці властивості можуть лежати в основі безрецидивного виживання хворих ГЛЛ, при чому ступінь виживання може залежати від наявності змін у геномі. Щоб перевірити це припущення.....» - необхідно вказати, хто автор припущення, яке Ви плануєте перевірити.

- загалом, при написанні розділів дисертації бажано використовувати минулий час, оскільки всі дослідження, спостереження і висновки вже зроблено.

Стосовно висновків – дисертантом поставлено 4 завдання, а висновків 8. Рекомендую ущільнити висновки, наприклад щодо ефективності ALLIC-BFM 2009 (№3 і №5).

У списку використаних джерел багато подано російських публікацій, в часі війни росії з Україною, я б рекомендувала (з патріотичних міркувань) зменшити по можливості цю кількість.

У списку опублікованих праць за темою дисертації, де є співавтори слід зазначити особистий внесок автора в роботу. Наприклад, «Винницька О. А., Дубей Л. Я., Дубей Н. В., Дорош О. І. Роль молекулярно-генетичних транслокацій у первинній відповіді на лікування дітей, хворих на гостру лімфобластну лейкемію, за програмою ALLIC BFM 2009. Вісник проблем біології і медицини. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021. № (3). *(Здобувачем проведено аналіз літературних даних, їх обговорення і систематизування, написання статті).*

#### **Питання.**

1. Що значить біфенотипові випадки захворювання, зокрема «лінійно-незалежні», В-лінійні, Т-лінійні?
2. Що означає комбінація МКАТ, наприклад CD19/34 чи CD19/33 тощо?
3. Транслокації бувають збалансовані і незбалансовані. Які конкретно Ви визначали і чому саме їх?
4. З чим пов'язано, що захворюваність на гострі лейкемії має певні вікові особливості, а саме – перше підвищення захворюваності спостерігається у дітей віком 2-8 років, а друге – після 14 років?

У підсумку, дисертація Винницької О. А. «Особливості мутаційного статусу при гострій лімфобластній лейкемії в дітей» по суті змісту та її оформленню відповідає вимогам, які пред'являються до наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 228 «Педіатрія» (22 – охорона здоров'я).

## ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Винницької О. А. «Особливості мутаційного статусу при гострій лімфобластній лейкемії в дітей», науковий керівник – доктор медичних наук, професор Дубей Л.Я. є завершеною самостійною науково-дослідною працею, яка вирішує актуальну і важливу науково-практичну проблему – удосконалення моніторингу перебігу гострої лімфобластної лейкемії у дітей на підставі вивчення молекулярно-генетичних змін у клітинах крові, пов'язаних з хворобою. За актуальністю, науковою новизною та практичним значенням робота Винницької О.А. повністю відповідає «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вчених звань», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07. 2013 року № 567 щодо кандидатських та докторських дисертацій та Закону України «Про внесення змін до деяких Законів України щодо присудження наукових ступенів» (реєстраційний номер №4667-1) від 16.04. 2021 року, а її автор Винницька О.А. заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 228 «Педіатрія» (22 – охорона здоров'я).

Рецензент,

к.мед.н., доцент, завідувач  
кафедри дитячих інфекційних хвороб  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького



Підпис  
Засвідчую

*Литвин Г. О.*  
*М. Шев. Шев. Т. Т.*

Литвин Г. О.

Провідний фахівець  
відділу кадрів  
ЛМНУ ім. Данила Галицького