



ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора
Мінченко Жанни Миколаївни

на дисертаційну роботу
Салаха А. А. Абушанаба

“Особливості перебігу лімфом із врахуванням поліморфізму генів *Tr53*,
L-tus, *CYP2D6*, *CYP2C19*”, що представлена
на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук
за спеціальністю 14.01.31 – гематологія і трансфузіологія
до спеціалізованої вченої ради Д.26.612.01 при ДУ «Інститут гематології та
трансфузіології НАМН України»

Актуальність теми.

Останні набутки в галузі досліджень механізмів розвитку та перебігу Неходжкінських лімфом, і аналіз ефективності лікувальних заходів вимагають нових підходів до лікування цієї категорії хворих з позицій індивідуалізації програм терапії з врахуванням комплексу молекулярно-генетичних маркерів, оскільки патогенетичні механізми розвитку даної патології зумовлені саме генетичними порушеннями. Це підтверджує той факт, що сучасна діагностика лейкемій і лімфом має базуватись на генетичній паспортизації хворого з реєстрацією в генетичному паспорті конкретного інформаційного спектру генетичних змін, які характеризують властивості пухлин, пов'язаних з перебігом захворювання. Безумовно, важливим моментом для прогнозування ефективності лікування є визначення несприятливих прогностичних чинників. Наявність яких, в певних випадках може потребувати інтенсифікації терапії навіть на ранніх стадіях захворювання, наприклад, проведення подвійної трансплантації хворим на лімфому і ММ. комбінованого застосування хіміотерапевтичних засобів та моноклональних антитіл. Тобто, визначення диференційно-прогностичних маркерів перебігу захворювання не тільки має значення для вибору терапії, але і дозволяє своєчасно застосовувати заходи щодо попередження, або мінімізації ускладнень, пов'язаних з загальною

токсичністю протипухлинних препаратів, оскільки токсичністю і обмежена ефективність стандартної хіміотерапії. Насьогодні в світовій практиці досить повно розроблені генетичні критерії ранньої діагностики і прогнозу перебігу різних нозологічних форм ХЛЛ, а також накопичились нові наукові дані стосовно патогенезу дифузних В-крупноклітинних лімфом (Д-В-ККЛ) і лімфом із малих лімфоцитів (ЛМЛ), спектру молекулярно-генетичних порушень, що є причиною виникнення медикаментозної резистентності, імунних порушень, негативного перебігу захворювання. Але питання розробки нових інформаційних критеріїв ризику виникнення та розвитку токсичних ускладнень при лікуванні Д-В-ККЛ і ЛМЛ насьогодні є актуальними, оскільки своєчасний прогноз ризику виникнення таких ускладнень сприяє проведенню профілактично-лікувальних заходів по мінімізації наслідків. Саме пим питанням присвячена дана дисертаційна робота що підтверджує її актуальність і перспективність. Науковий напрямок, обраний дисертантом охоплює два важливих аспекти гематології як дисципліни: **фундаментальний**, оскільки присвячений дослідженню молекулярно-генетичних механізмів лейкозогенезу на рівні вивчення значимості факторів генетичної схильності до патологічного процесу і **прикладний**, оскільки розширює знання щодо можливості зменшення негативного впливу поліхіміотерапії (ПХТ) на організм пацієнта шляхом своєчасного прогнозування небажаних ефектів і виявлення ранніх ознак міело-, гепато-, нефротоксичності при призначенні курсів лікування.

Зв'язок дисертаційної роботи з планами наукових досліджень установи, де виконувалась. Дисертаційна робота Салаха А. А. Абушанаба є фрагментом ініціативно-пошукових науково-дослідних робіт кафедри гематології та трансфузіології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України - «Вивчення закономірностей формування і удосконалення методів діагностики, лікування, хронічних мієлопроліферативних, лімфопроліферативних

захворювань і депресій кровотворення» № державної реєстрації 0110U000320 (терміни виконання 2010 - 2014 рр.); «Вивчення закономірностей формування і удосконалення методів діагностики, лікування, хронічних мієлопроліферативних, лімфопроліферативних захворювань і депресій кровотворення і оптимізація їх лікування та трансфізіологічного забезпечення», № государственной реєстрации 0115U002159 (терміни виконання 2015 - 2019 рр.). Автор є їх безпосереднім співвиконавцем.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій та зв'язок роботи з іншими науковими програмами. У дисертаційній роботі Салаха А. А. Абушанаба представлено серйозне обґрунтування наукових положень на підставі одержаних результатів клінічних, лабораторних, молекулярно-цитогенетичних і спеціальних методів досліджень, які ґрунтуються на значному клінічному матеріалі за кількістю обстежених осіб – обстежено 70 пацієнтів із Д-В-ККЛ і 51 пацієнтів із ЛМЛ. Лабораторні та клінічні дослідження виконано на сучасному рівні із залученням молекулярно-генетичних методів дослідження і сучасних математичних програм статистичної обробки даних..

Особистий внесок здобувача. Автором особисто визначено актуальність теми, вибрані та виконані дослідження – клінічний огляд хворих, взяття матеріалу, цитологічний аналіз мазків периферичної крові та кісткового мозку, проведено інтерпретацію результатів лабораторних та інструментальних методів обстеження, сформульовано завдання, відібрані клінічні групи хворих, здійснена клінічна оцінка результатів молекулярно-генетичних обстежень, комплексний аналіз отриманих даних, розроблено в співавторстві та впроваджено в роботу гематологічного відділення методику прогнозування виникнення токсичних ускладнень у пацієнтів з урахуванням поліморфізму генів. Особисто провів статистичне

опрацювання результатів досліджень, разом з науковим керівником сформулював висновки та практичні рекомендації. Автор висловлює вдячність співробітникам відділення гематології (зав. – к. мед. н., доцент Гартовська І. Р.) Комунального підприємства Київської обласної ради "Київський обласний онкологічний диспансер" (головний лікар – к. мед. н., доцент Ременнік О. І.) і «Референс-центру з молекулярної діагностики Міністерства охорони здоров'я України» (зав. – к. мед. н. – Россоха З. І.) за допомогу в проведенні клінічних і молекулярно-генетичних досліджень.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідались та обговорювались на міжнародних та вітчизняних наукових форумах. Зокрема, вони були викладені на: IV міжнародному медичному конгресі «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України» (Київ, 15 – 17 квітня 2015 року); V ювілейному міжнародному медичному конгресі «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України» (Київ, 19 – 21 квітня 2016 року); XIII з'їзді онкологів та радіологів України (26 – 28 травня 2016 року); науково-практичних конференціях з міжнародною участю: «Нове у медицині сучасного світу» (Львів, 27 – 28 листопада 2015 року), «Актуальні питання медичної теорії і практики» (Дніпропетровськ, 11 – 12 грудня 2015 року), «Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства» (Одеса, 19 – 20 лютого 2016 року); «Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки» (Львів, 26 – 27 лютого 2016 року).

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 15 друкованих праць: 7 статей (з них 4 – міжнародні публікації в наукометричних журналах, 3 – у фахових виданнях, рекомендованих ДАК України), 8 тез доповідей на конгресах, з'їздах і конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 139 сторінках принтерного тексту (115 сторінок основного тексту) та

складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалу і методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих даних, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел літератури, який містить 27 вітчизняних та 186 іноземних першоджерел. Робота ілюстрована 33 таблицями, 7 рисунками.

Наукова новизна роботи.

Розширені наукові дані відносно внеску компоненти генетичної схильності (поліморфізм генів *Trp53*, *L-тус*, *CYP2D6*, *CYP2C19*) у патогенез Д-В-ККЛ і ЛМЛ як факторів прогнозу ризику виникнення токсичних ускладнень при проведенні ПХТ на різних етапах лікування пацієнтів залежно від стадії захворювання, початкових показників кількості тромбоцитів, креатиніну, АЛТ, що дозволило рекомендувати їх як комплексну прогностичну модель.

Автором було проаналізовані моделі ген-генної, ген-факторної взаємодії. І встановлено, що механізми реалізації генетичної схильності до розвитку гематологічної токсичності не залежить від нозологічної форми. Запропоновані моделі в залежності від виду токсичних ускладнень - гепатологічної токсичності, нефрологічної токсичності. Доведено, що трьохкомпонентна модель найбільш точно відображає ризик виникнення токсичних ускладнень.

Практична значимість. З точки зору практичного значення важливо те, що отримані дані є науковою розробкою, яка відкриває можливості для тісної співпраці клініцистів-гематологів і фахівців-генетиків з метою впровадження сучасних генетичних методів у клінічну практику.

Оцінка структури, змісту та завершеності дисертаційної роботи. Дисертаційна робота викладена на 139 сторінках тексту (основний текст – 113 сторінок), матеріали дисертації ілюстровано 33 таблицями, 7 рисунками, 4 клінічними прикладами. Список використаних джерел налічує

213 найменувань, з яких 27 першоджерел вітчизняні і 186 - зарубіжні. Виклад матеріалу логічно пов'язаний з поставленою метою та завданнями. висновки, в цілому, відповідають поставленим завданням. У дисертації представлені усі необхідні розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень, обговорення результатів досліджень, висновки, практичні рекомендації. Результати власних досліджень викладені у чотирьох розділах. У розділах, що присвячені аналіз та узагальненню результатів дослідження та висновках підсумовані отримані результати.

Огляд літератури представляє собою логічний аналіз сучасного стану вивчення проблеми, з відображенням суперечливих та мало вивчених питань, що є обґрунтуванням вибору наукового напрямку дослідження.

Розділ складається з 3 підрозділів, в яких послідовно представлені результати світових набутоків в галузі вивчення молекулярної характеристики пухлинного процесу і молекулярних механізмів лейкозогенезу з висвітленням даних щодо сучасних поглядів відносно агресивних В-клітинних лімфом та генетичних основ їх патогенеза, , висвітлює роль генетичних маркерів, зокрема поліморфізму генів *Trp53*, *L-myc*, *CYP2D6*, *CYP2C19*. Автор акцентує особливу увагу на тому, що зв'язок поліморфізму генів *Trp53*, *L-myc*, *CYP2D6*, *CYP2C19* із клінічним перебігом Д-В-ККЛ і ЛМЛ є маловивченим, а ген-генні взаємозв'язки практично не досліджувалися.

У *2 розділі* надана загально біологічна характеристика хворих, логічно та послідовно описані методи дослідження. Автором застосований спектр молекулярних і цитогенетичних досліджень, який є адекватним поставленим завданням.

Розділ 3. *Клінічні особливості перебігу дифузних В-крупноклітинних лімфом і лімфом із малих лімфоцитів.* В розділі докладно представлена

клінічна характеристика хворих і надана оцінка інформативності клініко-лабораторних показників у діагностиці токсичних проявів.

*Вплив поліморфізму генів CYP2D6*4 (G1934A) і CYP2C19*2 (G681A) на ризик розвитку гематологічної і негематологічної токсичності у пацієнтів із Д-В-ККЛ*

На основі отриманих даних автор свідчить, що ризик появлення досліджених токсичних ефектів збільшується більш ніж в 5 разів при носійстві генотипу 1934GA ($\chi^2=4,87$, $p=0,027$, OR=5,28, 95 % CI (1,08-25,83)), що дозволило віднести його до прогностичних критеріїв ризику виникнення ускладнень даного типу, а генотип 1934GG віднесено до протекторів відносно розвитку будь якого виду токсичності ($\chi^2=4,43$, $p=0,035$, OR=0,25, 95 % CI (0,06-0,96)).

Аналіз поліморфних варіантів гена Tr-53 для прогнозу ризику виникнення токсичних ускладнень при лікуванні пацієнтів 0 неходжкінськими лімфомами

При проведеному порівняльному аналізі поліморфних варіантів гена Tr-53 у хворих на Д-В-ККЛ і ЛМЛ значимих відмінностей у поширенні досліджених генотипів не встановлено ($\chi^2=0,46$, $p=0,497$, OR=0,58 (0,19-1,76)). Носійство композиції генотипів 16 ins/dup по гену Tr53 з генотипом 1934GG по гену CYP2D6*4 у досліджених пацієнтів значимо знижувало ризик розвитку токсичних ефектів при проведенні поліхіміотерапії.

Дослідження поліморфізму гена L-тус (T3109G) у прогнозуванні ризику виникнення токсичних гематологічних і негематологічних ускладнень при лікуванні пацієнтів з Неходжкінськими лімфомами

На основі отриманих даних автор робить заключення, що сумарна частота виявлення клінічних випадків гематологічної і негематологічної токсичності не розрізнялась у хворих з Д-В-ККЛ і ЛМЛ, і не була асоційована з поліморфізмом гена *L-тус* (Т3109G). Але встановлено, що поширення пухлинного процесу, ризик розвитку II-IV стадій захворювання у пацієнтів спостерігалися при генотипах 3109TG і 3109GG.

Оцінка клініко-лабораторних показників і генетичних маркерів у прогнозуванні токсичних ускладнень при лікуванні пацієнтів з Неходжкінськими лімфомами.

Автором встановлено, що досліджені генотипи (1934GA и 1934AA по гену *CYP2D6*4*) асоційовані з підвищеним ризиком розвитку токсичних ефектів при проведенні ПХТ у пацієнтів з НХЛ. Цей ризик підвищувався за наявності генотипів 1934GA і 1934AA по гену *CYP2D6*4* майже у 5 разів, а генотип 1934GG по даному гену знижував ризик токсичних ефектів. Комбінація генотипів 1934GG+681GG по генам *CYP2D6*4* і *CYP2C19*2* значимо знижувала ризик розвитку гематологічної токсичності. Отримані дані явились підґрунтям для розробки моделі ген-генного дослідження хворих.

Останній розділ присвячений обговоренню отриманих результатів у співставленні з світовими набутками. Підсумовуючи отримані дані автор наголошує, що застосування ген-генних і ген-факторних прогностичних моделей розвитку токсичних ускладнень сприяє мінімізації можливих наслідків і є доцільним рекомендувати їх для використання у клінічній практиці при лікуванні пацієнтів з дифузними В-крупноклітинними лімфомами і лімфом із малих лімфоцитів.

Загальним зауваженням відносно викладенню матеріалу у розділах є недостатньо чітко сформульовані заключення до кожного з розділів, що ускладнює сприйняття матеріалу.

Хоча практичне значення роботи не викликає сумніву, однак, на жаль, автором на основі отриманих результатів не розроблено методичних рекомендацій чи інформаційного листа. Ці нововведення мали б важливе значення для практичної ланки охорони здоров'я.

Принципових зауважень до роботи немає, слід відмітити певні недоліки, зокрема стилістичні помилки, описки, а також ті, що були вже нами відзначені в ході аналізу результатів досліджень у відповідних розділах. Усі зазначені зауваження та поставлені питання, що виникли в процесі рецензування, не впливають на позитивне враження від роботи та не зменшують її теоретичного та практичного значення.

При ренензуванні дисертаційної роботи виникли наступні запитання:

1. Чому при виборі критерію для оцінки моделей ген-генної взаємодії і лабораторних показників ви зупинилися на критерії Аїкайке?

2. Як Ви вважаєте, в чому полягає механізм впливу трьохлокусної моделі поліморфізму генів на перебіг захворювання?

3. Чому із дослідження ви виключали пацієнтів із маркерами вірусних захворювань, зокрема, гепатитів і ВІЛ-інфікованих?

Висновок. Дисертаційна робота Салаха А. А. Абушанаба «Особливості перебігу лімфом із врахуванням поліморфізму генів *Trp53*, *L-тус*, *CYP2D6*, *CYP2C19*», є завершеною науково-дослідною роботою, в якій запропоновано теоретичне узагальнення та нове вирішення науково-практичної задачі діагностичного та прогностичного значення молекулярно-генетичних досліджень поліморфізму генів *Trp53*, *L-тус*, *CYP2D6*, *CYP2C19* для прогнозування виникнення мієло-, нефро- та гепатологічної токсичності при проведенні поліхіміотерапії у пацієнтів із дифузними В-крупноклітинними лімфомами і лімфомами із малих лімфопитів. За своєю актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, теоретичною значимістю і практичною цінністю, адекватністю методів дослідження і перспективністю робота повністю відповідає п.11 «Порядку присудження

наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. за №567, а її автор, Салах А. А. Абушанаб, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія і трансфузіологія.

Офіційний опонент завідувач лабораторії імуногенетики відділу гематології та трансплантології ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», доктор біологічних наук, професор



Мінченко Ж. М.

Підпис засвідчую
вчений секретар ІКР
В.Г. Кондрашова