



## ВІДГУК

на дисертацію Шляхтиченко Тетяни Юріївни «Особливості цитокінового профілю в прогнозі перебігу та ефективності терапії інгібіторами тирозинкіназ у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію», поданої на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія до спеціалізованої вченої ради Д 26. 612.01 ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»

Дисертаційна робота Шляхтиченко Тетяни Юріївни беззаперечно є актуальною, тому що присвячена науковому обґрунтуванню діагностики та ефективності лікування хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію (ХМЛ) на основі оцінки клінічних цитогенетичних та імунологічних змін у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію на різних етапах патогенетичної терапії інгібітором тирозинкіназ (ІТК) іматинібом мезилатом.

Відомо, що ХМЛ – клональне мієлопроліферативне захворювання, що характеризується ураженням гемопоєзу на рівні поліпотентної стовбурової кровотворної клітини та включенням клітин усіх ланок кровотворення в патологічний процес. Це підтверджується наявністю для ХМЛ аномальної Ph-хромосоми майже у всіх мітотичних клітинах мієлопоєзу, (гранулоцитах, моноцитах, мегакаріоцитах, еритрокаріоцитах) і зареєстровано у 88-97 % хворих ХМЛ. Також у цих хворих виявляються Ph-хромосоми в бластних клітинах. Відомо, що при ХМЛ є ураження всіх ланок гемопоєзу, але основним проліферуючим ростком є гранулоцитарний. Використання іматиніб мезилата у хронічну фазу (ХФ) ХМЛ призводить до покращення клініко-гематологічних показників та цитогенетичної і молекулярної ремісії, але не у всіх пацієнтів відбуваються позитивні зміни. Так як у патогенезі онкогематологічних захворювань в останній час велика увага приділяється спектру певних прозапальних та протизапальних цитокінів, то є підставою вважати, що дисертаційна робота Шляхтиченко Тетяни Юріївни, в якій вивчаються зміни цитокінового спектру та визначається залежність цих змін від схеми лікування іматинібом мезилатом є своєчасною, потрібною та актуальною. Подібні

дослідження проведено вперше, тому актуальність дисертації, її наукове та практичне значення для збереження та зміцнення здоров'я населення України не викликає сумніву.

**Наукова новизна роботи.** В дисертаційній роботі вперше визначені особливості секреції та співвідношення рівнів запальних і протизапальних цитокінів у хворих в хронічній фазі ХМЛ в динаміці спостереження в залежності від цитогенетичної редукції Ph<sup>+</sup> пухлинного клону клітин.

Встановлено, що у хворих в хронічній фазі ХМЛ порушується гомеостаз та вірогідно, підвищується вміст прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8) і протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) на фоні, вірогідно, знижених у кістковому мозку та периферичній крові ІЛ-2 та ІФН- $\gamma$ .

Під час лікування іматинібом відбувається часткове відновлення рівня досліджених цитокінів у КМ і сироватці ПК.

Встановлено також, що відновлення секреції сироваткових рівнів ІЛ-2 і ІФН- $\gamma$  у хворих в ХФ ХМЛ відбувається за умов редукції Ph<sup>+</sup> клону клітин в динаміці терапії іматинібом.

Поєднання вірогідного підвищення рівню ІЛ-8 з вірогідно зниженим рівнем ІЛ-2 і ІФН- $\gamma$ , що дає підставу дисертанту вважати даний комплекс інформативним прогностичним критерієм недостатньої ефективності лікування та несприятливого перебігу ХМЛ.

**Практичне значення отриманих результатів.** Дисертантом практично підтверджена необхідність визначення рівнів продукції ІЛ-2, прозапальних та протизапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- $\alpha$ , ІФН- $\gamma$ , ІЛ-4, ІЛ-10) у сироватці ПК хворих на ХМЛ, а також доцільність моніторингу їх концентрації в динаміці лікування іматинібом. Визначена інформативність визначення рівнів секреції ІЛ-8, ІЛ-2 та ІФН- $\gamma$  для прогноз перебігу ХМЛ.

За результатами досліджень отримано пат. 105902 Україна, МПК : А61Р 7/00 / Т. Ю. Шляхтиченко, І. С. Дягіль, Ж. М. Мінченко, І. В. Дмитренко, В. Г. Федоренко, О. О. Дмитренко, В. В. Шолойко; опубл. 11.04.2016, Бюл. №7, – 6 с. на корисну модель «Спосіб прогнозування відповіді на таргетну терапію у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію на основі визначення рівнів інтерлейкіну-2

і інтерферону- $\gamma$  в сироватці периферичної крові в залежності від рівня елімінації Ph позитивного клону клітин».

На основі проведених досліджень розроблено практичні рекомендації та визначені додаткові критерії прогнозу відповіді на лікування іматинібом та перебігу захворювання ХМЛ. Основні результати досліджень та положення роботи впроваджено у практику відділення радіаційної гематології ДУ «Національного наукового центру радіаційної медипини НАМН України»

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Дисертаційна робота Шляхтиченко Т.Ю. є завершеною працею, що виконана на сучасному науковому рівні та ґрунтується на аналізі достатнього за обсягом матеріалу. Вона присвячена науковому обґрунтуванню діагностики та ефективності лікування хворих на ХМЛ на основі оцінки клінічних цитогенетичних та імунологічних змін у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію на різних етапах патогенетичної терапії інгібітором тирозинкіназ (ІТК) іматинібом мезилатом. В дисертаційній роботі визначався рівень імунологічної реакції на застосування патогенетичної терапії іматинібом мезилатом у хворих на ХМЛ.

Відомо, що цитокіни регулюють всі етапи системної та локальної імунної відповіді, тому визначення стану цитокінової ланки імунного реагування на патогенетичну терапію ХМЛ іматинібом мезилатом на різних етапах захворювання, можливо надасть відповіді на виникнення резистентності до цього лікарського засобу у хворих на ХФ ХМЛ. Здобувачем запропоновано комплекс прогностичних клінічних та імунологічних критеріїв для оцінки перебігу ХФ ХМЛ і для оптимізації патогенетичної терапії іматинібом мезилатом. Визначення рівнів прозапальних та протизапальних цитокінів в перебігу ХФ ХМЛ дозволило удосконалити спектр діагностичних і прогностичних критеріїв ефективності лікування іматинібом мезилатом.

Для досягнення поставленої мети автором сформульовані конкретні завдання дослідження, реалізація яких дозволила науково обґрунтувати та запровадити діагностичні та прогностичні критерії ефективності лікування хворих на ХФ ХМЛ.

Використані методи наукової роботи адекватні поставленій меті та завданням дослідження, а самі методики є сучасними та високоінформативними.

Положення та висновки, викладені в дисертації, базуються на аналізі та узагальненні наведених у роботі даних, вони логічно обґрунтовані та відображають зміст дисертації.

**Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради.** Дисертація Шляхтиченко Т.Ю. є завершеною працею, у якій на основі проведення комплексу клініко-гематологічних, цитогенетичних та імунологічних досліджень теоретично обґрунтовано та експериментально доведено значення спектру прозапальних та протизапальних цитокінів для оцінки прогнозу, ефективності лікування та моніторингу хворих з ХМЛ і запропоновано додаткові імунологічні критерії для прогнозу формування відповіді на терапію іматинібом.

Мета, завдання, методи досліджень, основні результати та висновки дисертації відповідають спеціальності 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія та профілю спеціалізованої вченої ради Д 26. 612.01 ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України».

**Аналіз змісту дисертації.** Написана дисертаційна робота Шляхтиченко Т.Ю. за традиційною схемою, викладена логічно на 133 сторінках машинописного тексту, ілюстрована 20 таблицями та 20 рисунками і діаграмами, ретельно оформлена, легко читається та сприймається. Робота містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, два розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки та практичні рекомендації. Список використаної літератури представлений на 18 сторінках і складається із 157 джерел, серед яких 26 кирилицею та 131 латинцею.

У вступі на с. 5-10 представлені дані про актуальність дослідження, зв'язок роботи з науково-дослідними роботами Державної установи «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України (ННЦРМ). Дисертаційна робота Шляхтиченко Т.Ю. є самостійною науково-дослідною роботою та фрагментом двох науково-дослідних робіт: «Комплексна оцінка ефективності таргетної терапії хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію з урахуванням імуногенетичних, цитогенетичних та молекулярно-

генетичних характеристик патологічного клоюу клітин». Шифр теми 491, № держреєстрації: 0110U00179 (2010-2012 рр.); «Вивчення молекулярно-генетичних механізмів формування резистентності до терапії інгібіторами тирозинкіназ у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію для обґрунтування шляхів її подолання». Шифр теми 524, № держреєстрації: 0113U002315 (2013-2015 рр.).

У вступі також висвітлені мета роботи, яка присвячена «Удосконаленню прогностичних критеріїв перебігу ХМЛ та відповіді на терапію шляхом визначення рівнів прозапальних та протизапальних цитокінів на різних етапах таргетної терапії імаїнібом у хворих на ХМЛ у співставленні з клініко-гематологічною та питогенетичною відповіддю в динаміці». Сформульовано п'ять завдань дослідження для досягнення мети дисертаційної роботи, наукова новизна одержаних результатів, їх практична значимість, особистий внесок автора, відомості про апробацію результатів дисертації та публікації. Завдання адекватні поставленій меті наукової роботи. Вони реалізовані у відповідних розділах дисертаційної роботи. Матеріали вступної частини дисертації оцінюються позитивно.

**Аналітичний огляд літератури** (розділ I, с. 11-35) викладений на 24 сторінках машиннописного тексту та містить відомості про наукові роботи, виконані переважно в останні роки, і що стосуються як актуальності проблеми та обґрунтування необхідності проведення досліджень. Значної уваги приділено дисертантом молекулярним механізмам патогенезу ХМЛ, сучасним підходам до терапії ХМЛ та визначення місця цитокінів в патогенезі розвитку ХМЛ. Усього здобувачем використано 157 наукових джерел, переважна більшість яких надруковані іноземними дослідниками. Докладне ознайомлення з оглядом літератури та переліком посилань дозволяє констатувати, що дисертант добре володіє сучасною науковою літературою, вміє аналізувати, узагальнювати і робити відповідні логічні припущення та аргументовані висновки щодо визначення актуальності дисертації, формулювання мети та визначення завдань дослідження для її досягнення. Матеріали розділу оцінюються позитивно.

**Другий розділ.** В цьому розділі представлені матеріали та методи досліджень (стор. 36-41) автором проведені дослідження з використанням клініко-гематологічних методів, цитогенетичних. Проведено імуноферментний



аналіз – визначено концентрації цитокінів в сироватці периферичної крові та кістковому мозку. Для статистики дисертант використовувала статистично-варіаційний, регресійно-кореляційний аналіз (STAT V.7). Обстежено 52 пацієнтів із хронічною мієлоїдною лейкемією; серед них жінок – 26, чоловіків – 26, віком на момент встановлення діагнозу від 18 до 65 років (в середньому  $41,17 \pm 12,89$  років). Пацієнтів обстежували до лікування та через 6, 12, 24 місяців після лікування. Контрольну групу склали 45 практично здорових осіб (донори крові). Середній вік донорів крові склав  $42,5 \pm 6,8$ .

Для визначення концентрації досліджуваних цитокінів проведено 1800 лабораторних тестів. Дисертант вважає, що обраний спектр цитокінів, які визначались в зразках кісткового мозку і периферичної крові хворих на ХМЛ на момент встановлення діагнозу захворювання і під час таргетної терапії імаїнібом найбільш показово відображає стан імунної відповіді. Програма, обсяги та методи дослідження містить обґрунтування програми, матеріалів і методів досліджень з теми дисертаційної роботи. Програма досліджень є логічною та включає послідовні етапи, при впровадженні яких здобувач використовує адекватні, достатні за об'ємом методи дослідження та обробки отриманих результатів, практично їх реалізовує. Для математичної обробки використано статистичні методи, які адекватні меті та завданням роботи. Це дає підстави вважати отримані результати об'єктивними.

Використані методики загально визнані, інформативні і репрезентативні, вони дозволяють провести комплексний аналіз отриманих результатів. Розділ ілюстрований 1 таблицею. Зауважень до розділу немає.

**У третьому розділі** роботи (стор. 42-49) дисертант наводить результати клініко-гематологічних та цитогенетичних досліджень у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію. Вказує на особливості клінічного перебігу ХМЛ хворих, які отримували терапію ІМ та проводить цитогенетичний моніторинг терапії ХМЛ. Значне підвищення вмісту протизапальних цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-10), у ХФ ХМЛ, автор розцінює як фактор, що формує адаптивний імунітет і сприяє стимуляції В-клітинних реакцій. Синергічна дія протизапальних цитокінів, їх надмірний рівень, передусім продукції ІЛ-10 пригнічує синтез ІЛ-2 і ІНФ- $\gamma$  і, на думку автора, с

поганою прогностичною ознакою, що поєднується із зниженням механізмів протипухлинного захисту.

Автор звертає особливу увагу на цитогенетичний моніторинг для визначення ефективності лікування хворих на ХМЛ. Результати оцінювалися через 6, 12, 24 місяці після призначення ІМ. Автором встановлено прогресивну редукцію пухлинного клону. Цитогенетичну відповідь дисертант спостерігала вже через 6 місяців. Вміст Ph<sup>+</sup> клітин кісткового мозку на 6 місяці лікування становив 45 %, що удвічі менше у порівнянні таких на початку лікування. У подальшому, тобто через 12 та 24 місяці, реєстрували зниження Ph<sup>+</sup> гемопоєзу від 20 до 7 %. Матеріали розділу представлені у 2-х таблицях та 2-х рисунках. Основні положення висвітлено в 2 публікаціях. Розділ оцінюється позитивно.

У четвертому розділі роботи (стор. 50-93) представлені результати по визначенню цитокінового статусу в патогенезі та лікуванні хронічної мієлоїдної лейкемії. Автором вивчено динаміку змін цитокінового статусу в процесі таргетної терапії ХМЛ та обґрунтовано прогностичне значення цитокінів у формуванні відповіді на терапію інгібітором BCR-ABL тирозинкінази ІМ. У хворих ХФ ХМЛ переважає підвищення прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8), що може свідчити на користь високої активності запалення. Співвідношення ІЛ-10/ ФНП- $\alpha$  та ІЛ-10/ ІНФ- $\gamma$ , навпаки, зростає  $>1,0$ , це може підтверджувати, що надмірний рівень ІЛ-10 уповільнює процеси Т-клітинного імунітету і знижує протипухлинний імунітет.

Максимальні зміни вмісту цитокінів в ПК були через 24 місяці таргетної терапії, але незважаючи на позитивні зміни рівня цитокінів, концентрація основних прозапальних ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8 та протизапального ІЛ-10 залишалась підвищеною, а вміст ІНФ- $\gamma$  зниженим відносно відповідних контрольних значень. Моніторинг рівнів про- та протизапальних цитокінів на різних етапах лікування може бути одним з методів оцінки направленості імунологічної реакції, а також бути додатковим прогностичним критерієм ризику розвитку імуносупресії та оцінки ефективності протипухлинного імунітету. По матеріалу розділу надруковано 9 наукових праць та отримано 1 патент на корисну модель. Розділ оцінюється позитивно.

У розділі «Аналіз та узагальнення отриманих результатів», стор. 94-112, автор узагальнює результати виконаної роботи, підтверджені цифровими даними, та робить їх аналіз з урахуванням даних вітчизняної та зарубіжної літератури. Встановлено, що редукція Ph<sup>+</sup> клону клітин в динаміці терапії імаїнібом призводить до відновлення секреції ІЛ-2 і ІНФ- $\gamma$  в ПК у хворих ХФ ХМЛ. Поряд з цим, незважаючи на явну позитивну динаміку відновлення рівнів досліджуваних цитокінів, через 24 місяців лікування, у всіх пацієнтів ХМЛ незалежно від цитогенетичної відповіді, вміст прозапальних (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8), протизапального ІЛ-10, а також рівень ІЛ-2, ФНП- $\alpha$  і ІНФ- $\gamma$  не досягав контрольних значень. Цей факт вказує на порушення функціональної активності імунітету та протипухлинного захисту.

Дисертантом доведено, що високі рівні ІЛ-8 ( $\geq 41,3 \pm 1,32$ ) пг/мл та низькі концентрації ІЛ2 ( $\leq 9,2 \pm 0,2$ ) і ІНФ- $\gamma$  ( $\leq 24,1 \pm 7,1$ ) пг/мл у ПК на етапі діагностики ХФ ХМЛ знижують ймовірність досягнення великої цитогенетичної відповіді на терапію (через 24 місяців спостереження), їх рівні асоціюються з елімінацією Ph<sup>+</sup> клітин, ефектом від таргетної терапії, що вказує на можливість використовувати ці показники у якості імунологічних прогностичних критеріїв пухлинної прогресії та оцінки ефективності терапії при ХМЛ. Матеріали розділу оцінюються позитивно.

У висновках дисертаційної роботи автор узагальнює, аналізує і підсумовує отримані ним результати. Висновки, а їх 6, зроблені в роботі на с.113-114 у відповідності з отриманими результатами, є логічним завершенням дисертації. Вони відбивають реалізацію поставлених завдань, містять найважливіші наукові та практичні результати, отримані автором, ілюстровані цифровим матеріалом.

**Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових і фахових виданнях.** Отримані результати наукових досліджень при виконанні дисертаційної роботи були апробовані на міжнародних наукових і науково-практичних конференціях і з'їздах. За темою дисертації опубліковано 12 наукових робіт у фахових виданнях, рекомендованих Державною атестаційною комісією України, із яких – 1 розділ в монографії, 8 статей в журналах та збірниках наукових праць (1 з них в збірнику наукових праць, внесеному до міжнародних наукометричних баз), 2 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій. Отримано 1 патент на корисну модель. У



відмічених публікаціях відображені всі основні результати і положення дисертаційної роботи.

**Ідентичність змісту автореферату і основних положень дисертації.** Зауважень щодо оформлення дисертаційної роботи та автореферату немає. Структура та зміст автореферату ідентичні тим, що наведені в дисертації. Висновки по дисертації відображають усі закономірності, що витікають з результатів роботи. Висновки є цілком логічними, науково обґрунтованими, такими, що мають об'єктивне підґрунтя та носять чітко виражений інформативний характер, адекватно впливають з матеріалів проведених досліджень, привертають на себе увагу вагомою науковою новизною та практичною значимістю для сучасної гематологічної практики.

Отже, дисертаційна робота Шляхтиченко Тетяни Юріївни «Особливості цитокінового профілю в прогнозі перебігу та ефективності терапії інгібіторами тирозинкіназ у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію» заслуговує позитивної оцінки.

Проте, слід відмітити наступні зауваження, що не мають принципового характеру та які не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи:

1. У тексті дисертації зустрічаються окремі неточності, а також «русизми».

В процесі рецензування роботи виникли такі запитання:

1. Чому Ви вибрали саме такий спектр прозапальних цитокінів ( ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8,) та протизапальних цитокінів ( ІЛ-4, ІЛ-10)?

2. Як Ви можете пояснити, що у хворих ХФ ХМЛ підвищений рівень як прозапальних так і протизапальних цитокінів?

3. Чи визначали Ви кількість гранулоцитарних лейкоцитів у хворих ХФ ХМЛ після 6, 12, 24 місяців лікування імаїнібом мезилатом?

**ВИСНОВОК.** Дисертаційна робота Шляхтиченко Тетяни Юріївни «Особливості цитокінового профілю в прогнозі перебігу та ефективності терапії інгібіторами тирозинкіназ у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія є самостійною завершеною працею, в якій на основі

теоретичного узагальнення та проведення комплексних наукових досліджень обґрунтовано та доведено значення прозапальних та протизапальних цитокінів як імунологічних критеріїв для прогнозу перебігу та ефективності лікування ХМЛ іматинібом з урахуванням цитогенетичної відповіді. За своєю актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною, теоретичним узагальненням та практичним значенням дисертаційна робота відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженим Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія.

Офіційний опонент

Завідувач кафедри біотехнології

Навчально-наукового інституту

екологічної безпеки

Національного

авіаційного університету, д.б.н.



К.Г. Гаркава



В. Каравейко