



ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Шляхтиченко Тетяни Юріївни «Особливості цитокінового профілю в прогнозі перебігу та ефективності терапії інгібіторами тирозинкінази у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію»,
представлену на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія

Актуальність теми. Тема дисертаційного дослідження актуальна та стосується лікування хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію (ХМЛ) – рідкісну патологію, в основі якої лежить клональна проліферація пухлинно зміненої поліпотентної стовбурової клітини кісткового мозку. Пік захворюваності припадає на вік 30–50 років. ХМЛ виникає внаслідок злоякісної трансформації ранніх гемопоетичних стовбурових клітин. Унікальною особливістю ХМЛ є наявність специфічного маркера в пухлинних клітинах: філадельфійської хромосоми (транслокація t(9;22) (q34;q11), і, відповідно, химерний ген BCR-ABL, продукт якого білок p210 (рідкісні транскрипти p190 і p230), являє собою тирозинкіназу з підвищеною активністю, регулюючи сигнали, відповідальні за клітинний ріст, активацію диференціювання, адгезію і апоптоз.

Метою сучасного лікування ХМЛ є максимальне пригнічення росту патологічного клону клітин, а стандарт терапії першої лінії – застосування інгібітерів BCR-ABL тирозинкінази, препарату імаїніб (IM). У частини хворих на ХМЛ при застосуванні IM може розвинути перинна або вторинна резистентність до лікування, що зумовлено генетичними й імунологічними механізмами. Терапія інгібіторами тирозинкінази проводиться в безперервному режимі впродовж усього життя пацієнта, тому актуальним є не тільки підвищення рівня загальної виживаності, а й виділення пацієнтів зі стабільною повною молекулярною відповіддю, які потребують лише динамічного спостереження, а не лікування із застосування вартісних препаратів.

На сьогодні не обґрунтовано чітких показань щодо безпечного припинення терапії інгібіторами тирозинкінази. У патогенезі онкогематологічних захворювань важливу роль відводять не стільки зміні рівня окремих цитокінів (одні з них можуть індукувати посилення апоптозу неопластичних клітин, інші – блокувати, надаючи їм проліферативні переваги), скільки їх дисбалансу, що визначає перебіг захворювання і результат лікування. Тому вивчення рівня прозапальних та протизапальних цитокінів у хворих на ХМЛ на різних етапах таргетної терапії ІМ, а також обраний їх спектр (ІЛ-2, ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α , ІФН- γ , ІЛ-4, ІЛ-10), слід визнати перспективним науковим завданням.

Таким чином, прогнозування формування резистентності відповіді на таргетне лікування в кожному конкретному випадку, з урахуванням цитокінового профілю у хворих на ХМЛ та його зв'язку з показниками ефективності лікування, є безумовно обґрунтованим та актуальним підходом у дослідженні, що потребує наукового і практичного вирішення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження проводились за планом науково-дослідних робіт Державної установи «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України»: «Комплексна оцінка ефективності таргетної терапії хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію з урахуванням імуногенетичних, цитогенетичних та молекулярно-генетичних характеристик патологічного клону клітин» (номер державної реєстрації 0110U00179, шифр теми 491 (2010–2012 рр.); «Вивчення молекулярно-генетичних механізмів формування резистентності до терапії інгібіторами тирозинкіназ у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію для обґрунтування шляхів її подолання» номер державної реєстрації 0113U002315, шифр теми 524 (2013–2015 рр.).

Для вирішення поставленої в роботі мети – удосконалення прогностичних критеріїв перебігу ХМЛ та відповіді на таргетну терапію імагінібом у хворих на ХМЛ шляхом визначення рівнів прозапальних та протизапальних цитокінів в периферичній крові та кістковому мозку

і співставлення їх з клініко-гематологічною та цитогенетичною відповіддю в динаміці.

Наукова новизна одержаних результатів. Автором вперше визначені особливості секреції та дисбалансу рівнів запальних і протизапальних цитокінів у хворих в хронічній фазі ХМЛ в динаміці спостереження з урахуванням цитогенетичної редукції Ph⁺ пухлинного клону клітин.

Встановлено, що порушення гемопоезу при ХМЛ супроводжується вірогідним підвищенням вмісту як прозапальних (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α), так і протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) цитокінів за наявності вірогідно знижених рівнів ІЛ-2 та ІФН- γ у КМ і ПК.

Доведено, що в динаміці таргетної терапії іматинібом хворих на ХМЛ відбувається часткове відновлення рівня досліджених цитокінів у кістковому мозку периферичній крові, що сприяє зменшенню ступеня цитокінового дисбалансу.

Встановлено, що редукція Ph⁺ клону клітин в динаміці терапії іматинібом сприяє відновленню секреції рівнів ІЛ-2 і ІФН- γ у хворих в ХФ ХМЛ.

Обґрунтовано, що цитокіновий спектр залежить від цитогенетичної відповіді в динаміці лікування іматинібом (через 6, 12 та 24 місяці). Визначені зміни продукції досліджених цитокінів, які призводять до нормалізації їх балансу у всіх хворих ХФ ХМЛ і характеризуються достовірним зниженням рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10, а також підвищенням концентрацій ІЛ-2 і ІФН- γ відносно їх показників в ПК до лікування іматинібом. Найбільш виражені зміни їх вмісту у хворих зі стабільною повною цитогенетичною відповіддю.

Характерною імунологічною ознакою відсутності оптимальної відповіді на терапію іматинібом є поєднання вірогідного підвищення рівню ІЛ-8 з вірогідно зниженим рівнем ІЛ-2 і ІФН- γ , що дає підставу вважати даний комплекс інформативним прогностичним критерієм недостатньої ефективності лікування та несприятливого перебігу ХМЛ.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі аналізу результатів дослідження автором доведено доцільність моніторингу концентрації питокінів у динаміці лікування ХМЛ препаратом ІМ, розроблено практичні рекомендації і визначені додаткові критерії прогнозу перебігу захворювання та відповіді на лікування імаїнібом у хворих на ХМЛ.

Стже, обрана тема та завдання дисертації є актуальними для сучасної гематології, а дисертаційна робота безпосередньо пов'язана з виконанням планових науково-дослідних робіт в ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України».

Ступінь обґрунтованості та вірогідності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота Шляхтиченко Т.Ю. базується на результатах клінічного спостереження 52 хворих на ХМЛ та 45 практично здорових осіб, загальна кількість яких цілком дозволяє провести відповідні дослідження та отримати достовірні результати.

Загальна кількість залучених хворих, частота та ретельність проведених тестів є достатніми для адекватної статистичної оцінки результатів. Результати, які отримала автор у представленій роботі, є достовірними, отримані із застосуванням сучасних методів, а саме: клініко-гематологічні, імуноферментні, цитогенетичні, статистичні, висновки відповідають поставленим завданням, закономірно впливають з результатів досліджень і повністю розкривають шляхи розв'язання означеної проблеми.

Повнота викладу результатів в опублікованих працях й авторефераті. Основні наукові результати дисертації повністю викладено в 12 наукових працях у наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК України, з них: розділ в монографії – 1, статей в журналах та збірниках наукових праць – 8, у т. ч.: 1 – в збірнику наукових праць, внесеному до міжнародних наукометричних баз; 2 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій. Отримано 1 патент на корисну модель. В опублікованих працях ґрунтовно висвітлено основні висновки та положення дисертаційної роботи

у повному обсязі. Автореферат повністю відображає основний зміст дисертації і не містить інформації, яка відсутня в ній.

Сціпка змісту дисертації й автореферату, зауваження. Структура дисертації є традиційною, відповідає вимогам ДАК та складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, розділів з результатами власних досліджень, їх узагальнення, висновків та практичних рекомендацій. Дисертація викладена на 133 сторінках машинопису, ілюстрована 20 таблицями, 20 рисунками та діаграмами, а список літератури налічує 157 джерел, з них 26 кирилицею та 131 латиницею.

У **Вступі** автор аргументує актуальність роботи, формулює мету і завдання дослідження, наукову новизну, практичну значущість роботи. Мета роботи сформульована чітко, завдання дослідження лаконічні. Можна принагідно відзначити, що з досягнення мети дослідження і поставленими завданнями дисертант успішно впоралась.

В **огляді літератури** автором проаналізовано усі найвагоміші досягні першоджерела з теми, чітко й аргументовано розкрито сучасний стан патогенезу ХМЛ, акцентовано на ролі цитокінів у розвитку цієї патології. Детально описані сучасні підходи до терапії ХМЛ з урахуванням еволюції лікування – від використання цитостатичних препаратів, препаратів інтерферону-альфа і до застосування інгібіторів протеїнкіназ. Дисертант наголошує, що попри те, що складні механізми цитокінової регуляції імунної відповіді давно і глибоко вивчаються, проте, на сьогодні, оприлюднено лише окремі й різноспрямовані дані щодо рівня та ефективності функціонування інтерлейкінового спектра при ХМЛ, а визначення концентрації низки цитокінів сприятиме умотивованому вибору тактики лікування, а також моніторингу відповіді на терапію.

У розділі **«Матеріали та методи дослідження»** наукової роботи наведено клінічну характеристику масиву хворих, методи їх обстеження, охоплено значний комплекс сучасних клініко-гематологічних, цитогенетичних та імуноферментних досліджень у хворих на ХМЛ в хронічній фазі на етапах

первинної діагностики захворювання і подальшої терапії іматинібом, обґрунтовано достатність обсягу проведених досліджень. Концентрації інтерлейкінів (ІЛ-2, основних прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α), прогизапальних цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-10), а також інтерферону- γ (ІНФ- γ) визначали у зразках кісткового мозку і периферичної крові 52 осіб, які були обстежені у відділенні радіаційної онкогематології та трансплантації стовбурових клітин клініки Державної установи «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України». Контрольну групу склали 45 практично здорових осіб (донори крові). Кількість обстежених осіб є достатньою для виконання поставлених у роботі завдань. Статистична обробка отриманих даних виконана за допомогою пакетів прикладних програм STATISTICA 6, що в достатній мірі підтверджує вірогідність отриманих результатів.

У **розділі 3** представлено клініко-гематологічні характеристики хворих на ХМЛ, проаналізовано особливості перебігу хвороби у пацієнтів, які отримали терапію ІМ. Для визначення ефективності лікування хворих на ХМЛ проведено цитогенетичний моніторинг. Результати оцінювали через 6, 12, 24 міс після призначення ІМ.

Підкреслено, що препарат Іматинібу мезилата в дозі 400 мг/д в першій лінії лікування хронічної фази ХМЛ має високу ефективність: частота великої цитогенетичної відповіді через 6 міс терапії становила 46 %, а через 12–24 міс лікування – 96,1 %.

В **розділі 4** проаналізовано цитокіновий статус у процесі лікування хворих на ХМЛ ІМ з метою виокремлення додаткових патогенетичних та прогностичних критеріїв оцінки ефективності протипухлинної терапії. У більшості пацієнтів виявлено виражену позитивну динаміку змін показників цитокінового статусу, статистично значущими були зміни вмісту як про- так і проти запальних цитокінів (концентрація ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-4 та ІЛ-10 в сироватці ПК і КМ знижувалась, а рівні ІЛ-2, ФНП- α та ІНФ- γ – підвищувались). Автором обґрунтовано доцільність застосування іматинібу

в якості патогенетично спрямованої терапії хронічної фази ХМЛ, яка сприяє поступовій нормалізації секреції як прозапальних – ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, так і проти запальних – ІЛ-4, ІЛ-10 цитокінів, що полягає у зниженні їх концентрації у сироватці периферичної крові та кісткового мозку хворих на ХМЛ і спричиняє зменшення ступеня цитокінового дисбалансу.

Таргетна терапія імагінібом сприяє відновленню рівня ІЛ-2 та стимуляції продукції ІНФ- γ і, як наслідок, активації механізмів протипухлинної цитотоксичності. Максимальний терапевтичний ефект ІМ встановлено із плином 24 міс лікування.

У розділі 5 проведено обговорення отриманих результатів дисертаційного дослідження, детально їх проаналізовано, зроблено узагальнення щодо важливості проведення порівняльного дослідження рівнів внутрішньоклітинної продукції цитокінів у хворих на ХМЛ. Підсумовано, що контроль рівнів про- та проти запальних цитокінів та їх балансу на різних етапах лікування ІМ може бути одним з додаткових методів оцінки ефективності лікування, формування резистентності, моніторингу спрямованості імунної відповіді, а також прогнозу перебігу захворювання, ризику розвитку імуносупресії та неспроможності протипухлинного імунітету у хворих на ХМЛ в хронічній фазі. Наголошено, що нові підходи з використанням ІМ потребують подальших досліджень, а виявлені закономірності змін цитокінового профілю значно розширюють уявлення про молекулярно-клітинні механізми розвитку ХМЛ і з перспективи надають можливість означити нові стратегії терапії хворих на ХМЛ.

Суттєвих зауважень до окремих розділів дисертаційної роботи немає.

Висновки сформульовано в 6 пунктах, які є логічним продовженням дисертаційної роботи, відображають зміст наукового дослідження, відповідають поставленій меті та завданням.

Практичні рекомендації чітко сформульовані та в цілому відповідають поставленим у роботі завданням.

Недоліки дисертації та автореферату щодо її змісту і оформлення. Під час ознайомлення з дисертацією виявлено окремі стилістичні помилки, на що вказано авторові, які не впливають на якість та результати роботи.

У ході рецензування роботи виникло кілька запитань, на які важливо отримати відповіді:

1. Як часто Ви рекомендуєте проводити дослідження рівня цитокінів у пацієнтів з ХМЛ, які отримують лікування інгібіторами тирозинкінази (кожні 3 міс, 6 міс тощо), яким цитокінам надавати перевагу?

2. Чи доцільно застосовувати запропонований Вами алгоритм моніторингу за захворюванням у пацієнтів з ХМЛ, які отримують хіміотерапію (гідроксисечовину), інтерферони тощо?

3. Чи вважаєте можливою у майбутньому розробку чітких показань щодо безпечного припинення терапії інгібіторами тирозинкінази у хворих, які досягли молекулярної відповіді, за визначенням рівня цитокінів?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

У цілому основні положення дисертаційної роботи, зроблені висновки та практичні рекомендації, є обґрунтованими та достовірними завдяки охопленню новітньої наукової літератури, залученню сучасних методів дослідження, опрацьованого значного обсягу клінічного матеріалу, реалізованій адекватній статистичній обробці. У дисертаційній роботі на основі комплексу клініко-гематологічних, цитогенетичних та імуноферментних методів дослідження теоретично обґрунтовано та експериментально доведено значення рівнів цитокінів для комплексної оцінки прогнозу перебігу та ефективності лікування ХМЛ з урахуванням цитогенетичної відповіді. Визначено роль дисбалансу імунологічних порушень цитокінового профілю та запропоновано імунологічні критерії для прогнозу формування відповіді на терапію іматинібом.

Дисертаційна робота Шляхтиченко Тетяни Юріївни «Особливості цитокінового профілю в прогнозі перебігу та ефективності терапії інгібіторами

тирозин кіназ у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію» є завершеним науковим дослідженням, у якому отримані нові наукові результати, що вирішують важливе наукове завдання гематології – удосконалення прогностичних критеріїв перебігу ХМЛ та відповіді на терапію шляхом визначення рівнів прозапальних та протизапальних цитокінів на різних етапах таргетної терапії іматинібом у зіставленні з клініко-гематологічною та цитогенетичною відповіддю.

Дисертаційна робота Шляхтиченко Тетяни Юріївни «Особливості цитокінового профілю в прогнозі перебігу та ефективності терапії інгібіторами тирозин кіназ у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію» за актуальністю, теоретичним і практичним значенням, обсягом, формою та повнотою викладених наукових результатів цілком відповідає вимогам, що надаються до кандидатських дисертацій згідно п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 щодо кандидатських дисертацій, а здобувач Шляхтиченко Т.Ю. заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.31 – гематологія та трансфузіологія.

Офіційний опонент –
завідувач науково-дослідного відділення
хіміотерапії солідних пухлин
Національного інституту раку,
доктор медичних наук



Сивак Л. А.

