

Голові спеціалізованої вченої ради
ДФ 26.155.002 в Інституті експериментальної
патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України доктору біологічних наук,
старшому науковому співробітнику
в.о. завідувача лабораторії проблем
метастатичного мікрооточення
Ганусевич Ірині Іванівні

ВІДГУК

**офіційного опонента - доктора наук, старшого наукового співробітника,
провідного наукового співробітника лабораторії діагностики
онкогематологічних захворювань ДУ «Інститут гематології та
трансфузіології НАМН України»
Андресвої Світлани Василівни**

**на дисертацію Поліщук Альони Станіславівни на тему; «Імуноцитохімічна
характеристика деяких форм В-клітинних неходжкінських лімфом в стадії
лейкемізації», подану для захисту на здобуття ступеня доктора філософії за
спеціальністю 091- Біологія**

Актуальність обраної теми дисертації. Дисертаційна робота Поліщук А.С. присвячена проблемі сучасної онкогематології розробці додаткових критеріїв діагностики деяких форм В-клітинних неходжкінських лімфом в стадії лейкемізації.

На теперішній час зареєстровано невпинне зростання захворюваності на злоякісні новоутворення. В останні десятиліття фіксується зростання рівня захворюваності та смертності від неходжкінських лімфом. Згідно Національного канцер-реєстру України у 2020 році загальна кількість випадків захворювання на неходжкінські злоякісні лімфоми в 2020 році становила 2382, а показники смертності – 2,8 на 100 тисяч населення.

Неходжкінські лімфоми представляють гетерогенну групу пухлин, що виникають з різних типів клітин лімфоїдної тканини. З урахуванням клініко-гематологічних проявів виділяють нозологічні форми з переважаючим ураженням лімфатичних вузлів різної локалізації, первинно екстранодальні й десиміновані або лейкемічні.

Сучасна класифікація новоутворень знаходиться на етапі уточнення деяких типів лімфом і ґрунтується на принципі аналізу клінічних, гістологічних досліджень, результатів морфоімунологічних співставлень, а у разі необхідності залучення молекулярно-генетичних даних, згідно з яким всі лімфоми поділяють з урахуванням особливостей диференціювання нормальних лімфоїдних елементів і поділяють на пухлини з клітин-попередників або периферичних (зрілих) імунокомпетентних клітин. Лімфоми, що виникають з клітин, які знаходяться на різних рівнях диференціювання і з різних мікроанатомічних зон периферичних лімфоїдних органів мають унікальні імунофенотипові характеристики.

Досягнення і утримання ремісії у пацієнтів на неходжкінські лімфоми є актуальною у сучасній онкогематології. Прогноз і тривалість життя хворих залежать від ранньої діагностики та своєчасного проведенням адекватної протокової терапії. Тому комплексні дослідження цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик лімфоїдних клітин крові та кісткового мозку для виявлення розповсюдження патологічного процесу в організмі, проведенню диференційної діагностики та встановленню діагнозу у випадках неможливості проведення біопсії лімфатичного вузла або отримання матеріалу із екстранодальних осередків ураження і обумовило актуальність, наукове і практичне значення представленої роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відділі онкогематології Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України у межах трьох науково-дослідних робіт: 1) «Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика лейкозів у післячорнобильський період» (2015 – 2017рр.; номер державної реєстрації 0114U004390), 2) «Вивчення ензимоцитохімічних та імуноцитологічних особливостей кровотворних клітин-попередників при різних формах гемобластозів» (2015 – 2019рр.; номер державної реєстрації 0115U002969), 3) «Дослідження структури гемобластозів у післячорнобильський період в групах населення України, постраждалих

внаслідок дії іонізуючої радіації» (2018 – 2020рр.; номер державної реєстрації 0117U004978).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації. Структура роботи обумовлена метою, об'єктом і предметом дослідження. Об'єктом дослідження є лімфоїдні клітини периферичної крові і кісткового мозку у вигляді мазків та суспензії мононуклеарів від 293 пацієнтів віком від 26 до 88 років з підозрою на В-клітинні неходжкінські лімфоми (В-НХЛ), а також окремі випадки гострих лейкозів, мієлодиспластичних синдромів (МДС). Предметом дослідження вибрані морфологічні та цитохімічні ознаки пухлинних клітин, антигени поверхневих мембран лімфоїдних клітин пацієнтів на різні форми новоутворень кровотворної та лімфоїдної тканин на час встановлення діагнозу захворювання.

Дисертаційна робота Поліщук А.С. викладена українською мовою на 135 сторінках, складається з анотації, вступу, шести розділів (одного розділу огляду літератури, одного розділу матеріалів та методів дослідження, трьох розділів результатів дослідження, одного розділу обговорення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та двох додатків. Такий підхід до вибору структури і змісту дослідження є логічним і дає можливість різнопланово та повно висвітлити вибране коло завдань.

Авторка роботи представила ретельний огляд сучасних літературних посилань щодо проблем становлення проблем характеристики морфоімунофенотипових особливостей субстратних клітин при вибраному переліку лімфом, а саме: В-клітинний хронічний лімфолейкоз (В-ХЛЛ), лімфома з малих лімфоцитів (ЛМЛ), моноклональний В-клітинний лімфоцитоз (МКЛ), лімфома маргінальної зони селезінки (ЛМЗС), волосковоклітинний лейкоз (ВКЛ), волосковоклітинний лейкоз- варіант (ВКЛ-В), лімфома червоної пульпи селезінки (ЛЧПС), лімфома мантийної зони (ЛКМ), бластоїдний варіант лімфоми клітин мантиї (БВ-ЛКВ), дифузна В-крупноклітинна лімфома (ДВВКЛ).

Аналіз проблеми автор починає з становлення класифікацій, які беруть свій початок з 1832 року по теперішній час з більш детальним оглядом сучасної

класифікації ВООЗ (2016 р.) і її доповнення у 2017 році, яка базується на імуногістохімічних критеріях і молекулярно-біологічних характеристиках В-клітинних лімфоїдних новоутворень, що, в свою чергу, сприяють уточненій диференційній діагностиці на ранніх стадіях захворювання. Це дозволяє доповнити картину і розуміння природи кожної окремої патології, що сприяє адекватному вибору терапії. Огляд літератури є ґрунтовним і налічує 135 джерел. У більшості випадків це статті в іноземних журналах, які індексуються у міжнародних наукометричних базах. Все перераховане дає підстави вважати, що дисертант на високому системному рівні окреслив відомі факти та виявив низку невирішених проблем.

Для досягнення мети та виконання поставлених завдань Поліщук А.С. обрала сучасні та відповідні методи: цитоморфологічний, цитохімічні, імуноцитохімічний та статистичні.

Доцільність застосування використаних методів не викликає сумніву і дає змогу висунення обґрунтованих висновків, які базуються на фундаментальному комплексному дослідженні та підтверджуються достовірними фактами.

Автором роботи відповідно до мети та поставлених завдань викладаються результати проведених досліджень, які аґрументовані 36 рисунками і 24 таблицями. У розділі третьому доведено, що МВЛ, В-ХЛЛ, ЛМЛ нагадували малі лімфоцити, в яких реакція на КФ була від слабкої дрібногранулярної до помірно дифузно гранулярної, при додаванні інгібіторів в 1-2% слабо зберігалася (В-ХЛЛ), з невеликою кількістю крупніших клітин – пролімфоцитів, та мали наступний імунофенотип: CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD23^{+/-}, CD5^{+/-}. Зважаючи на це важливим критерієм при проведенні диференційної діагностики даних патологій є саме кількість субстратних клітин в кістковому мозку та абсолютний лімфоцитоз в периферичній крові. У четвертому розділі автор порівнювала ЛМЗС, ВКЛ, ЛЧПС, та ВКЛ-В і показала, що незважаючи на ряд подібних ознак, субстратні клітини даних захворювань відрізнялися між собою та походять із клітин різних за ступенем диференціювання В-лімфоцитів. Аномальні клітини відрізнялися між собою за розміром, формою ядра, структурою хроматину,

кольором та розміром цитоплазми, реакція на КФ - поліморфна, при додаванні інгібіторів реакція при ВКЛ та ВКЛ-В інгібувалась, при ЛМЗС та ЛЧПС зберігалась в невеликому відсотку випадків (до 25%). Субстратні клітини давали позитивну реакцію при виявленні антигенів CD19, CD20, CD22, та відрізнялися реакцією при виявленні таких маркерів як CD11c, CD25, CD103 та циклін D1. У п'ятому розділі аномальні клітини при БВ-ЛКМ за цитоморфологічними характеристиками подібні до бластів, в яких не виявляли МПО, у більшості випадків КНЕ, КФ, проте у деяких випадках спостерігали дрібногранулярну реакцію на КНЕ та КФ, яка повністю інгібувалась при додаванні іонів тартрату. За результатами імунофенотипування субстратних клітин при БВ-ЛКМ сформовано 2 групи та виділено окремі три випадки, які не ввійшли до цих груп. Злоякісно трансформовані клітини хворих на БВ-ЛКМ першої групи мали імунофенотип – CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁺, циклін D⁺, CD23⁻, CD10⁻), другої – CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁻, циклін D⁺, CD23⁻, CD10⁺), а окремо виділені випадки – CD19⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁺, CD10⁻, sλ⁺, sμ⁺, суμ⁻; – CD19⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁻, CD10⁺, sλ⁺, sμ⁺, суμ⁺; – CD19⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁻, CD10⁻, sλ⁺, sμ⁺, суμ⁺. Всі отримані результати у шостому розділі співставлено з даними літературних посилань і зроблені висновки.

Викладене вище свідчить про достатній рівень обрунтованості і вірогідності наукових положень, висновків і рекомендацій дисертаційного дослідження. Поставлені задачі дисертаційного дослідження розкриті в повному обсязі. Висновки загалом відповідають поставленим завданням та відповідно відображаються у оприлюдненій анотації дисертації.

Достовірність та наукова новизна одержаних результатів. Автор узагальнює та всебічно розглядає наукові праці провідних іноземних та українських науковців, успішно демонструє особливості власних напрацювань, що доповнює наукові доробки інших дослідників й визначає наукову новизну держаних результатів.

Наукова новизна представлених результатів полягає у тому, що на основі комплексних цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових

характеристик пухлинних клітин запропоновані діагностичні критерії та розроблено алгоритм лабораторної діагностики стадії лейкемізації деяких форм В-клітинних неходжкінських злоякісних лімфом.

За результатами дослідження сформульовані основні положення, що виносяться на захист і містять елементи наукової новизни. Вперше визначено, що субстратні клітини ВКЛ-В характеризуються поліморфною реакцією на КФ, яка не інгібується при додаванні інгібітору – іонів тартрату. Доведено, що субстратні клітини при БВ-ЛКМ за цитоморфологічними характеристиками подібні до бластів, в яких не виявляли МПО, у більшості випадків КНЕ–, КФ– негативні, проте у деяких випадках спостерігали дрібногранулярну реакцію на КНЕ та КФ, яка повністю інгібувалася при додаванні іонів тартрату. У всіх пацієнтів спектр експресії на поверхневих мембранах антигенів на поверхневих мембранах клітин відповідав зрілим В-лімфоцитам, Вперше дисертант на основі цитоморфологічних, цитохімічних і імунофенотипових ознак субстратних клітин охарактеризован нова нозологічна форма МВЛ запропоновані критерії диференційної діагностики В-ХЛЛ, ЛМЛ та МВЛ, лімфоми з клітин мантийної зони (ЛКМ) та БВ-ЛКМ в стадії лейкемізації, а також розроблені критерії диференційної діагностики ДВВКЛ, злоякісних анонімних пухлин епітеліальної природи, що метастазували в кістковий мозок, лімфоми Ходжкіна, лімфоплазмоцитарної лімфоми, лімфоми Беркітта спорадичного типу та БВ-ЛКМ.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що викладені у дисертаційній роботі результати в подальшому можуть бути використані:

- 1) для цитоморфологічної та імуноцитохімічної характеристики субстратних лімфоїдних клітин при моноклональному В-клітинному лімфоцитозі, лімфомі з малих лімфоцитів, волосковоклітинному лейкозі – варіанті, лімфомі червоної пульпи селезінки та бластоїдному варіанті лімфоми клітин мантиї;
- 2) уточнені критерії диференційної діагностики лімфоми маргінальної зони селезінки, волосковоклітинного лейкозу та В-клітинної лімфоми/лейкозу селезінки некласифікованої.

3. отримані результати дозволяють проводити диференційну діагностику бластоїдного варіанту лімфоми з клітин мантиї в стадії лейкемізації з іншими формами новоутворень.
4. розроблені критерії диференційної діагностики дифузної В-великоклітинної лімфоми з метастазами злоякісних пухлин в кістковому мозку, лімфомою Ходжкіна, плазмоклітинною лімфомою, лімфомою Беркітта спорадичного типу, бластоїдним варіантом лімфоми з клітин мантийної зони.

Повнота викладу основних результатів дисертації в опублікованих працях. Основні положення та висновки дисертації викладено у 18 наукових робіт, зокрема 6 статтях, 3 з яких у фахових наукових виданнях рекомендованих МОН України та однієї в науковому виданні держави, що входить до Європейського Союзу, 3 науково-методичні посібники, 2 патенти на корисну модель та 7 тез у збірниках наукових конференцій та з'їздів. Усі сформульовані висновки обґрунтовано на основі особистих досліджень автора.

Оцінка змісту дисертації. Структура дисертації обумовлена метою і завданнями дослідження та складається з анотації, переліку умовних позначень, вступу, шести розділів (одного розділу огляду літератури, одного розділу матеріалів та методів дослідження, трьох розділів результатів дослідження, одного розділу узагальнення та обговорення результатів, висновків, практичних рекомендацій списку використаних джерел та двох додатків, списку використаних джерел (135 найменувань, з них 41 кирилицею, 94 - латиницею) та двох додатків. Структура повністю відповідає окресленим цілям і завданням дослідження та дозволила здобувачу найбільш повно охопити предмет дослідження. Аналіз тексту дисертаційної свідчить про відсутність порушення автором вимог академічної доброчесності.

Анотація не містить інформації, яка була б відсутньою в дисертації. Анотацію та текст дисертації оформлено відповідно до вимог Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 «Про затвердження порядку присудження наукових ступенів».

Дисертаційне дослідження Поліщук А.С. містить посилання на згадані автором у тексті джерела інформації в разі використання ідей, розробок, тверджень, відомостей. Автором дотримано вимоги норм законодавства про авторське право; надано повну і достовірну інформацію про результати наукової діяльності, а також використані методики досліджень.

Дискусійні положення та зауваження щодо захисту дисертації. Загалом позитивно оцінюючі дисертаційну роботу Поліщук А.С., варто зазначити, що наявні деякі зауваження та дискусійні питання:

1. Ви в своїх дослідженнях широко використовуєте цитохімічні методи, зокрема виявлення КФ. На скільки цей метод є цінним та допомагає в постановці діагнозу?
2. На даний момент існує безліч методів дослідження В-НХЛ, включаючи морфологічні, цитохімічні, гістологічні, імуногістохімічні, імуноцитохімічні, молекулярно-генетичні, цитогенетичні. На Вашу думку чи достатній цей перелік досліджень для постановки діагнозу В-НХЛ?
3. В розділі «Матеріали і Методи» представлена досить деталізована картина проведення дослідження з розгорнутим висвітленням кожної з методик, можливо доцільніше було б вказати посилання на конкретний метод.
4. Проводячи порівняльний аналіз отриманих результатів у групах пацієнтів, необхідно вказувати що один пацієнт, не може складати групу, а розглядається як окремий випадок з характеристикою всіх особливостей відмінних від загальної вибірки. Наскільки необхідно проводити аналіз поодиноких випадків у розділах особистих даних, можливо краще їх вивести в окремий розділ.
5. Оскільки основним об'єктом дослідження були деякі форми В-НХЛ, можливо в огляді літератури варто було детальніше висвітлити особливості кожної з патологій, надавши їм загальну характеристику
6. При встановленні діагнозу В-НХЛ важливим є вивчення клінічних даних, у Вашій роботі наведені деякі особливості клінічної картини перебігу захворювання, але хотілося б почути більш змістовну характеристику.

Разом з тим, висловлені зауваження та запитання мають виключно доброзичливий та рекомендаційний характер. Вважаю, що загальне позитивне враження від представленої дисертаційної роботи вони не применшують.

Загальний висновок та оцінка дисертації. Дисертаційна робота Поліщук Альони Станіславівни на тему «Імуноцитохімічна характеристика деяких форм В-клітинних неходжкінських лімфом в стадії лейкоїзації» є самостійним, завершеним науковим дослідженням.

Отримані автором результати забезпечують розв'язання актуального наукового завдання в галузі науки 09 Біологія.

Дисертаційна робота Поліщук А. С. на тему «Імуноцитохімічна характеристика деяких форм В-клітинних неходжкінських лімфом в стадії лейкоїзації» відповідає спеціальності 091 – Біологія та вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у вищих навчальних закладах (наукових установах), затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року № 261 (зі змінами і доповненнями від 03 квітня 2019 року № 283), п. 10 Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 06 березня 2019 року № 167, а її автор Поліщук Альона Станіславівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент:

**доктор наук, старший науковий співробітник,
провідний науковий співробітник
лабораторії діагностики онкогематологічних
захворювань ДУ «Інститут гематології та
трансфузіології НАМН України»**

С.В. Андрєєва

