

ВІДГУК
офіційного опонента

на дисертаційну роботу Сипко Тетяни Сергіївни «Особливості формування цитогенетичних ефектів у лімфоцитах онкологічних хворих за умов дистанційної променевої терапії при різних обсягах та режимах опромінення», поданої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика

Актуальність теми дисертації.

Дисертаційна робота Т.С. Сипко належить до галузі генетики людини, дослідження з якої вносять вагомий вклад у розуміння закономірностей формування цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин в залежності від режимів дистанційного опромінення з низькою лінійною передачею енергії для вдосконалення біологічного супроводу променевої терапії.

Актуальність обраного напрямку дисертаційної роботи Т.С. Сипко обумовлена зростанням частоти онкологічних захворювань в усьому світі, в тому числі й в Україні. Аналізуючи захворюваність серед населення України, встановлено, що частота захворюваності на онкологічну патологію за останні 10 років зросла від 333,7 на 100 тис. населення до 345,9 на 100 тис. населення.

Променева терапія є одним із методів лікування на теперішній час, яка може слугувати за модель для вивчення генетичних ефектів локального фракціонованого опромінення в умовах *in vivo*, в тому числі й в динаміці. Висока радіочутливість та специфічність утворення хромосомних аберацій обумовлює ефективне використання саме хромосомного аналізу, що обумовлено пошкоджуючим впливом радіації на клітини здорових тканин, які безпосередньо знаходяться в зоні опромінення.

На цей час відсутні комплексні дослідження, в яких би відстежувались зміни цитогенетичних пошкоджень впродовж всього курсу терапії із урахуванням режиму опромінення та локалізації пухлин. Слід також відзначити, що дослідження прямих біологічних ефектів опромінення є вкрай важливими і слугуватимуть основою для подальшого вивчення віддалених та непрямих наслідків іонізуючого опромінення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.
Дисертаційну роботу виконано на кафедрі генетики і цитології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна на базі лабораторії радіаційної цитогенетики ДУ «ІМРО НАМН України» у межах двох планових НДР («Порівняльний аналіз динаміки цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих під

час променевої гамма-терапії ^{60}Co на апараті РОКУС-АМ та мегавольтної фотонної терапії на лінійному прискорювачі» (2013–2015 рр.), НДР «Визначення особливостей реалізації цитогенетичних ефектів променевої терапії у пацієнтів з різними обсягами та режимами опромінення» (2016–2018 рр.).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Основні наукові положення і висновки дисертації ґрунтуються на результатах, отриманих з використанням адекватних меті та завданням роботи методів цитогенетичного (методика короткострокового культивування лімфоцитів периферичної крові людини, класичний цитогенетичний аналіз, аналіз електронних зображень метафазних пластинок) та статистичного (оцінка рандомізованості розподілу частот цитогенетичних перебудов, відповідність розподілу за (σ^2/Y) та u -тестом Папворта (u), Стьюдентом) аналізів.

Достовірність і новизна отриманих результатів.

Достовірність отриманих результатів забезпечується коректним дизайном досліджень, вибором сучасних методів цитогенетичного та статистичного аналізу, що дозволило вперше надати порівняльну оцінку хромосомних порушень впродовж дистанційної променевої терапії у хворих з різними локалізаціями пухлин.

Дисертацію вирізняє високий методологічний рівень виконання цитогенетичного дослідження, що відповідає меті та задачам, які вирішено в повному обсязі. Репрезентативність представлених даних забезпечено аналізом великого об'єму вибірок метафазних пластинок у хворих з різними онкологічними захворюваннями.

В межах одного комплексного дослідження аналіз цитогенетичних показників у хворих з різними локалізаціями пухлин (гінекологічними, легенів, голови та шиї) під час гамма- та мегавольтної променевої терапії встановив залежність рівня аберацій хромосомного типу від об'єму опроміненої фракції тіла та джерела опромінення.

Цитогенетичну картину було доповнено вивченням радіаційно-неспецифічних пошкоджень хромосом, а саме хроматидного типу. Додатково проведено експеримент *ex vivo* з симуляцією локального опромінення та співставлення з даними дослідження *in vivo*. Дисертантом показана здатність за допомогою цитогенетичного тесту виявити випадки опромінення та його локальності як на початковому етапі променевої терапії, так і в експерименті *ex vivo*.

Наукова новизна проведеного дослідження полягає у виявленні закономірностей формування цитогенетичних ефектів у хворих з

різноманітними локалізаціями пухлин при різних режимах дистанційного опромінення для вдосконалення біологічного супроводу променевої терапії. Надзвичайно важливо, що дисертантом доведено доцільність проведення цитогенетичного тесту в умовах *in vivo* на початковому етапі променевої терапії при різних обсягах опроміненої фракції тіла і в умовах *ex vivo* із симуляцією локальності опромінення для детекції факту опромінення та його локальності.

Рекомендації з подальшого використання результатів роботи та доцільність продовження і розвитку відповідних досліджень.

Результати мають суттєве теоретичне значення для медичної генетики, а саме радіаційної цитогенетики людини, і є важливим підґрунтям для цитогенетичного моніторингу пацієнтів з онкопатологією під час променевого лікування, що дозволяє вчасно фіксувати факти переопромінення та надасть можливість скорегувати подальше радіотерапевтичне лікування хворих з онкозахворюваннями. Отримані результати і сформульовані на підставі цього висновки є новими, науково обґрунтованими і мають практичне значення для цитогенетичного моніторингу пацієнтів з онкопатологією під час променевого лікування.

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому, зауваження щодо оформлення. Відповідність дисертації встановленим вимогам.

За обсягом і структурою дисертаційна робота відповідає сучасним вимогам, що ставляться до кандидатських дисертацій, і включає всі відповідні розділи. Дисертація викладена на 180 сторінках та ілюстрована 21 таблицею та 12 рисунками. Робота містить вступ, розділ з огляду наукової літератури, розділ матеріалів і методів дослідження, 7 розділів з результатами досліджень, розділ аналізу та узагальнень результатів дослідження, висновки, список використаних джерел, який включає 118 найменувань (33 – кирилицею, 85 – латиницею), 2 додатки.

Анотація викладена українською, російською, англійською мовами, надано список робіт, опублікованих за темою дисертації.

У **вступі дисертації** відображено актуальність досліджуваної проблеми, показано зв'язок з НДР, в межах яких виконувалась дисертаційна робота, мета і завдання дослідження, об'єкт, предмет та методи дослідження, наукова новизна і практична значущість роботи, особистий внесок здобувача, інформація про апробацію результатів дослідження, публікації.

В **першому розділі** дисертації, що присвячений висвітленню й аналізу сучасної наукової літератури з досліджуваної проблеми, автор розглядає основні напрямки цитогенетичних досліджень радіаційного впливу на непухлинні клітини при променевій терапії; вплив опромінення від джерел з

різною лінійною передачею енергії та методологічні особливості проведення цитогенетичних досліджень при променевої терапії. Здобувач акцентує увагу на наукових задачах, які потребують подальшого дослідження.

У **другому розділі «Матеріали та методи досліджень»** наведено загальні методичні підходи, застосовані при виконанні роботи, використані методики, обсяг досліджень, статистичні методи обробки результатів. Ознайомлення з цим розділом свідчить про володіння дисертантом сучасними методами цитогенетичного та статистичного аналізу, що представлені в роботі.

Дисертація включає **7 розділів власних досліджень**. Здобувач у рамках комплексного дослідження надала характеристику цитогенетичних показників у хворих з онкопатологією при променевої терапії, що дозволило виявити особливості реалізації цитогенетичних ефектів та визначити їх залежність від таких головних чинників, як джерело опромінення та об'єм опроміненої фракції тіла. Під час дослідження, Сипко Т.С., незважаючи на однакову тенденцію зростання рівня цитогенетичних пошкоджень впродовж променевого лікування, встановила різницю у накопиченні аберацій хромосом, яка залежала від джерела опромінення та локалізації пухлин. При цьому суттєве зростання рівня аберацій хромосом спостерігали у групі онкогінекологічних хворих.

Характеристика цитогенетичного статусу онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин в ході терапевтичного опромінення доповнена аналізом радіаційно-неспецифічних аберацій хромосом та геномних порушень. Здобувач показала, що на відміну від онкогінекологічних хворих та пацієнтів з пухлинами голови та шиї, рівень аберацій хроматидного типу у групі хворих із злоякісними новоутвореннями легенів зростав від початку і до кінця курсу променевого лікування, при цьому переважно за рахунок аберацій хромосомного типу.

Дисертант встановила, що наддисперсний характер розподілу по клітинах аберацій хромосомного типу загалом і дицентриків, які є маркерами радіаційно ураження, спостерігався у групі онкогінекологічних хворих як в середині, так і наприкінці курсу променевої терапії.

Надзвичайно важливо, що Т.С. Сипко виявила закономірності формування цитогенетичних ефектів у онкологічних хворих з різними локалізаціями пухлин в залежності від режимів дистанційного опромінення з низькою лінійною передачею енергії для вдосконалення біологічного супроводу променевої терапії, що дозволить швидко і вчасно встановлювати випадки переопромінення при променевому лікуванні та радіаційних аваріях, а також сприятиме розвитку принципів індивідуалізації радіотерапії.

Під час дослідження дисертантом були показані кількісні та якісні особливості реалізації цитогенетичних ефектів на різних, зокрема початкових, етапах променевої терапії у онкологічних хворих з урахуванням джерела опромінення та локалізації пухлин та встановлено інформативність обраної моделі експерименту *ex vivo* з симуляцією локальності опромінення на ранніх етапах променевого лікування для підтвердження факту радіаційного впливу.

Результати роботи Т.С. Сипко вказують на важливість комплексного вивчення наслідків опромінення від різних джерел у немішених здорових клітинах, що поєднує в собі дослідження в умовах *ex vivo* та *in vivo*.

Саме такий підхід та розроблений дизайн досліджень дозволяють коректно оцінити ефекти локального фракціонованого радіаційного впливу, що є одним із складних випадків опромінення, наслідки якого можуть залежати від таких факторів як джерело та об'єм опроміненої фракції тіла. Отримані здобувачем дані сприятимуть вдосконаленню системи біологічного супроводу онкологічних хворих впродовж променевого лікування.

У заключному розділі «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» Т.С. Сипко досить повно і різнобічно обговорює результати дисертаційної роботи в цілому, проводить зіставлення власних і літературних даних, обґрунтовує доцільність проведеного дослідження.

У кінці кожного розділу сформульовано висновки, що відображають отримані результати, наведено посилання на праці здобувача, в яких опубліковано відповідні результати. Всі друковані праці дисертанта представлені у списку використаних джерел.

Висновки логічно витікають із проведених досліджень, зроблені автором обґрунтовано, відповідно до сучасних уявлень, цілком відображають основний зміст роботи і привертають увагу до вагомих моментів проведеного дослідження.

Дисертацію та автореферат викладено українською мовою в науковому стилі.

Відповідність автореферату змісту дисертації та повнота опублікування досліджень по темі.

Автореферат відповідає змісту дисертаційної роботи.

За матеріалами дисертаційної роботи було опубліковано 7 статей, з яких 5 статей – у фахових виданнях України (в тому числі 1 стаття – у періодичному виданні, що входить до міжнародної наукометричної бази даних Scopus), 2 статті – в інших наукових виданнях України; 22 тез доповідей, 1 нововведення, 1 інформаційний лист, 1 патент на корисну модель.

Результати дисертаційної роботи були широко представлені на 21 науковому форумі різного рівня, в тому числі й за кордоном (Румунія, Греція, Швейцарія, Чорногорія, Сербія, Німеччина, Нідерланди).

Враження від роботи є позитивним. Принципових зауважень до представленої кандидатської дисертації немає, але виникли окремі зауваження та дискусійні питання.

Дискусійні питання і зауваження:

1. Дисертаційна робота дещо переобтяжена скороченнями досліджуваних нозологій та цитогенетичних порушень (стор. 36, 46, 50), що ускладнює сприйняття матеріалу, має окремі стилістичні огріхи та описки (стор. 28, 58).

2. В окремих таблицях, що надані в дисертаційній роботі, не має приміток (стор. 73, 77, 81, 84, 86 тощо), які б розшифровували позначення показників в цих таблицях.

3. Чому в таблицях не представлено наявності значущих відмінностей між частотою різних аберацій хромосом?

4. Чим обумовлена необхідність проведення цитогенетичного обстеження хворих віком 43-84 років з різними онкозахворюваннями? Чому для визначення цитогенетичних ефектів опромінення Ви не обрали одну або дві нозологічні одиниці?

5. Можете навести, чи проводилися аналогічні цитогенетичні дослідження у хворих з різними онкологічними захворюваннями в інших наукових установах України або світу?

6. У роботі вказано частоту клітин з різними структурними порушеннями хромосом у хворих з онкологічними захворюваннями ший, голови, легені та гінекологічних органів, а яка загальна частота всіх аберацій хромосом, включаючи й ті, що є маркерами радіаційного впливу на початку лікування, в середині циклу та наприкінці?

7. Як Ви розцінюєте значення u-тесту Папворта і чи існує програма для його розрахунку?

Висновок:

Дисертаційна робота Сипко Тетяни Сергіївни «Особливості формування цитогенетичних ефектів у лімфоцитах онкологічних хворих за умов дистанційної променевої терапії при різних обсягах та режимах опромінення» є завершеним науковим дослідженням, в якому надано нове рішення наукової задачі, що присвячена впливу іонізуючого випромінювання на немішеневі тканини хворих із злоякісними новоутвореннями. Отримані дані є корисними для подальшого розвитку радіаційної цитогенетики людини. За актуальністю,

новизною отриманих результатів, науковою і практичною значущістю, обсягом виконаних досліджень, дисертація відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 (зі змінами внесеними згідно з Постановами КМ № 656 від 19.08.2015; № 1159 від 30.12.2015; № 567 від 27.07.2016, № 943 від 20.11.2019, № 607 від 15.07.2020), які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор Сипко Тетяна Сергіївна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний опонент:

Завідувач лабораторії медичної генетики,
Державної установи «Інститут охорони
здоров'я дітей і підлітків Національної
академії медичних наук України»
доктор біологічних наук, професор

 – Н.В. Багацька

Особистий підпис
ЗАСЕДЧУЮ
Вчений секретар

