

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора Тертишного Сергія Ігоровича,
завідувача кафедри патологічної анатомії і судової медицини
Запорізького державного медичного університету МОЗ України
на дисертаційну роботу Чертенко Таїсії Миколаївни
«Діагностика та прогноз перебігу астроцитарних пухлин головного мозку
(клініко-морфологічні та молекулярно-біологічні аспекти)»,
представлену до захисту у спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03 при
Харківському національному медичному університеті
на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук
за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Актуальність обраної теми дисертації

Незважаючи на значні досягнення в області онкології і нейрохірургії, гліальні пухлини головного мозку продовжують залишатися актуальною проблемою сучасної медицини. Серед хворих з первинними пухлинами головного мозку абсолютна більшість (від 45 до 62% за даними різних авторів) складають пацієнти з гліомами різного ступеня злоякісності. Найбільший інтерес представляють астроцитарні пухлини, які є найбільш поширеним типом гліом і які становлять близько 50% від усіх пухлин головного мозку. В Україні останнім часом відмічається поступове зростання рівня захворюваності на злоякісні пухлини головного мозку. Епідеміологічні дані свідчать, що рівень захворюваності на гліоми в Західній Європі, США, а також в Україні знаходиться в межах 4-19 випадків на 100 тис. населення. Наведені статистичні дані демонструють велику кількість хворих з новоутвореннями головного мозку, які потребують достовірної прижиттєвої діагностики з метою вибору адекватного методу лікування з індивідуальним підходом.

Між тим діагностика астроцитарних пухлин з точним визначенням гістологічного типу та ступеня злоякісності часто обмежені через суб'єктивність та відносність певних діагностичних критеріїв, відсутність

уніфікованих стандартів оцінки експресії маркерів біологічних властивостей тканин, відсутність сучасних панелей імуногістохімічних маркерів для вирішення основних діагностичних дилем. Залишаються недостатньо вивченими випадки рецидування та посттерапевтичного патоморфозу астроцитарних пухлин, особливості їх імунного статусу, що нерозривно пов'язано з розробкою та вибором специфічної таргетної терапії для пацієнтів.

З огляду на вищесказане можна зробити висновок, що поглиблене дослідження біологічних властивостей дифузних астроцитарних пухлин, направлене на вдосконалення їх патоморфологічної діагностики на підставі аналізу їх морфологічних, імуногістохімічних та молекулярно-генетичних характеристик, є однією з головних завдань сучасної патоморфології і фактично покладено в основу дисертаційної роботи Чертенко Т. М. У зв'язку з цим, кандидатська дисертація Чертенко Таїсії Миколаївни «Діагностика та прогноз перебігу астроцитарних пухлин головного мозку (клініко-морфологічні та молекулярно-біологічні аспекти)», є актуальною та перспективною.

Зв'язок теми дисертаційної роботи з державними чи галузевими науковими програмами

Представлена робота є частиною науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії Харківської медичної академії післядипломної освіти «Патогістологічна та імуногістохімічна діагностика і прогноз злоякісних пухлин різної локалізації з урахуванням їх біологічних властивостей та клінічного перебігу» (№ держреєстрації 0117U000594), у якій дисертант є безпосереднім виконавцем досліджень, присвячених вивченню дифузних астроцитарних пухлин головного мозку.

Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради Харківської медичної академії післядипломної освіти (протокол №1 від 19.02.2016 р.).

Новизна дослідження та одержаних результатів

У дисертаційній роботі представлено результати дослідження ряду гістологічних та імуногістохімічних ознак астроцитарних пухлин головного мозку. Визначені основні діагностичні та прогностичні клініко-морфологічні, імуногістохімічні, цитогенетичні показники дифузних астроцитарних пухлин Grade III-IV отримані нові дані щодо значення виявлених ознак в формуванні агресивного потенціалу пухлин.

Проведений автором епідеміологічний аналіз дозволив уточнити дані щодо захворюваності та місця дифузних астроцитарних пухлин в структурі як первинної пухлинної патології ЦНС, так і в структурі рецидивів в Харківському регіоні.

Автором доповнені дані щодо додаткових мутацій в гені IDH-1: встановлен зв'язок мутації IDH1^{105GGT}SNP з анапластичними астроцитомами та віддаленими рецидивами пухлин у пацієнтів.

Автором отримані нові дані щодо молекулярно-біологічних особливостей рецидивів, виявлені критерії прогресії пухлин: збільшення експресії Ki-67 в групі раних рецидивів порівняно з первинними пухлинами, превалювання більш виразної експресії EGFR в групі первинних пухлин, що дали рецидив протягом року після операції порівняно з аналогічною групою без рецидивів. Встановлена сильна коекспресія MMP-9 та індексу васкуляризації в рецидивуючих пухлинах, в той час як в первинних пухлинах спостерігалася коекспресія EGFR та p53, EGFR та MMP-9.

Автором встановлена роль імунної системи в прогресуванні пухлин (достовірне збільшення CD8-позитивних клітин в групі рецидивів, достовірний зв'язок помірної та високої експресії CD68 в пухлинах з розвитком рецидивів протягом року). Визначен сприятливий імунний паттерн пухлин (CD3(-/+)/CD4(++/+++)/CD8(++/+++).

Автором вперше запропонована математична модель прогнозування рецидивів гліобластом протягом року після первинної операції, яка дозволяє з точністю 86,7% оцінити ризик розвитку рецидивів з урахуванням віку

пацієнта, рівня експресії EGFR, CD68 та показників Т-клітинної інфільтрації в тканині пухлини (CD3,CD4,CD8).

Теоретичне значення результатів дослідження

Сукупність отриманих автором результатів доповнює наукові дані та поглиблює сучасні уявлення щодо молекулярно-біологічних властивостей дифузних астроцитарних пухлин 3-4 ступеня злоякісності та особливостей їх патоморфозу після комбінованої хіміо- та променевої терапії, а тому мають теоретичне значення для обґрунтування застосування нових підходів в діагностиці, прогнозуванні перебігу та індивідуалізації лікування онкохворих.

Практичне значення результатів дослідження

Розроблена математична модель дозволяє найбільш точно прогнозувати розвиток рецидиву протягом року після операції та стандартного курсу хіміо- й променевої терапії у пацієнтів з супратенторіальною гліобластою wild type. Отримані імуногістохімічні дані відносно особливостей ангиогенезу, імунного профілю та експресії EGFR у перспективі дозволять підібрати пацієнтам індивідуалізовану таргетну терапію. Дані стосовно підтипів гліобластом та псевдопрогресії будуть корисними як для лікарів-патологоанатомів при діагностиці, так і для лікарів-нейрохірургів та онкологів під час вибору схеми лікування.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Основні положення дисертаційної роботи, висновки і рекомендації сформовані за результатами епідеміологічного дослідження захворюваності на дифузні астроцитарні пухлини в Харківському регіоні за період 2000-2015 роки, сучасних методів патоморфологічного дослідження адекватно

розподіленого на групи клінічного матеріалу хворих на дифузні астроцитарні пухлини Grade III-IV та статистичного аналізу отриманих даних.

Епідеміологічне дослідження включало 1920 медичних карт стаціонарних хворих з пухлинами ЦНС. Гістологічне дослідження виконувалося на 161 випадку дифузних астроцитарних пухлин. Для комплексного імуногістохімічного та молекулярно-генетичного дослідження були відібрані 55 випадків дифузних астроцитарних пухлин Grade III-IV, які були поділені на групу первинних пухлин та рецидивів.

В роботі застосовані адекватні та сучасні методи дослідження, а саме гістологічний, імуногістохімічний, молекулярно-генетичний та статистичний для обробки отриманих даних, що дозволило вирішити поставлену в роботі мету та завдання, отримати нові статистично обґрунтовані дані.

Всі зроблені висновки та ствердження щодо корисності використання в якості діагностичних критеріїв імуноморфологічних особливостей дифузних гліом головного мозку, базуються на даних статистичної обробки отриманих результатів.

Висновки роботи науково обґрунтовані, базуються на отриманих результатах, відповідають поставленим задачам.

Вищенаведене вказує на обґрунтованість та достовірність одержаних результатів, наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, які виходять із основних положень та поставлених завдань дисертації.

Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях і авторефераті

Основні положення дисертаційної роботи викладені у 12 наукових працях: 7 статей у наукових фахових виданнях України, які індексуються міжнародними наукометричними базами (з них 2 статі без співавторів); 1 стаття в закордонному науковому виданні (Польща); 4 тези у матеріалах наукових конференцій (з них 1 тези в матеріалах закордонної конференції).

Матеріали дисертаційної роботи були представлені та обговорені на науково-практичній конференції з участю міжнародних спеціалістів «Індивідуальна анатомічна мінливість органів, систем, тканин людини та її значення для практичної медицини та стоматології» (Полтава, 19–20 травня 2016 року); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 5–7 жовтня 2016 року); XVI International congress of medical Sciences (Sofia, Bulgaria; 11–14 травня 2017 року); X конгресі патологів України (Яремче, 27–28 вересня 2018 року); Всеукраїнській щорічній науково-практичній конференції молодих вчених «Медицина XXI століття» (Харків, 23 листопада 2018 року).

Апробація дисертації відбулася 26.11.2018 р. на спільному міжкафедральному засіданні кафедр патологічної анатомії Харківської медичної академії післядипломної освіти, патологічної анатомії та нейрохірургії Харківського національного медичного університету, загальної та клінічної патології та кафедри анатомії людини Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна.

В авторефераті лаконічно викладені матеріали кандидатської дисертації, її основні положення, висновки і практичні рекомендації. Автореферат співпадає з головними положеннями дисертації та всебічно висвітлює її зміст.

Структура і зміст дисертації. Дисертаційна робота оформлена згідно вимогам ДАК України (№9-10, 2011,2015) викладена державною мовою на 148 сторінках машинопису (з них залікового тексту 112 сторінок) і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 51 рисунком та 17 таблицями.

У вступі дисертантом обґрунтована актуальність, сформульована мета роботи та завдання для її вирішення, висвітлена наукова новизна та практичне значення результатів дослідження, представлено перелік наукових

конференцій, на яких були апробовані результати та кількість наукових публікацій за темою дисертації.

Огляд літератури (Розділ 1) містить 6 підрозділів, в яких 4, 5 та 6 підрозділи поділені на частини. Огляд літератури є глибоким і повним, охоплює найбільш вагомі джерела вітчизняної та закордонної наукової літератури з визначеної проблеми. В розділі описані епідеміологія, клінічна картина та діагностика, морфологічні особливості, патогенетичні особливості та найбільш розповсюджені імуногістохімічні та молекулярно-генетичні особливості дифузних астроцитарних пухлин. Вказано на велику антигенну різноманітність дифузних астроцитарних пухлин, наявність суперечливих даних щодо прогностичної цінності імунного профілю дифузних астроцитарних пухлин Grade III-IV, відсутність достатньої кількості даних щодо молекулярно-біологічних особливостей рецидивів та низький рівень вивчення патоморфозу вказаних пухлин внаслідок хіміо- та променевої терапії. Всі ці дані є підґрунтям для роботи автора. Даний розділ демонструє широку ерудицію автора та поглиблене ставлення до досліджуваної проблеми, вказує на спроможність автора згрупувати, проаналізувати велику кількість існуючих даних і відокремити нез'ясовані питання для подальшого власного дослідження.

В другому розділі «Матеріали та методи дослідження» наведені дані щодо об'єкту дослідження, кількості вивчених спостережень, принципу їх розподілу на групи, що відповідає завданням дисертації. В цьому розділі також наведені дані щодо використаних методик. Широка панель ПГХ маркерів дозволила провести глибокий аналіз молекулярно-біологічних особливостей дифузних астроцитарних пухлин. Використання в роботі методу ПЛР дозволило отримати дані щодо наявності специфічних мутацій в гені IDH1. Морфометрична оцінка пухлин проведена з використання сучасних цифрових технологій. Статистичну обробку отриманих даних проведено за допомогою адекватно підібраних критеріїв, що дало змогу об'єктивно оцінити отримані результати. Об'єкт та методи дослідження цілком відповідають меті та

завданням дисертаційної роботи. Достатня кількість матеріалу та використані методи забезпечують сучасний рівень дослідження та одержаних наукових даних.

Результати власних досліджень викладені у двох розділах дисертації.

У першому розділі власних досліджень викладені дані щодо місця дифузних астроцитарних пухлин в структурі пухлинної захворюваності ЦНС в Харківському регіоні за період 2000-2015 роки. Докладно описані клініко-морфологічні особливості первинних дифузних астроцитарних пухлин та їх рецидивів.

Автором визначені гендерні, вікові, клінічні особливості дифузних астроцитарних пухлин. Визначені особливості їх локалізації та морфології. Проведений аналіз випадків рецидування та летальності.

Розділ ілюстрован 9 рисунками та 2 таблицями. Завершується розділ узагальнюючим висновком.

Другий розділ власних досліджень, присвячений вивченню імуногістохімічних та молекулярно-генетичних особливостей первинних та рецидивуючих дифузних астроцитарних пухлин, а саме здебільшого їх злоякісним варіантам. Розділ складається з 5 частин, які висвітлюють такі питання як: фенотипічні особливості дифузних астроцитарних пухлин Grade III-IV, особливості їх судинної мережі, проліферативного потенціалу, імунного профілю та визначення оптимальних прогностичних критеріїв рецидування з побудовою прогностичної моделі.

В кожному з підрозділів досліджуються відмінності між первинними та рецидивуючими пухлинами, пухлинний патоморфоз та сприятливі та несприятливі молекулярно-біологічні критерії для розвитку ранніх рецидивів.

Досліджена експресія широкої панелі маркерів серед яких і сучасний маркер рекомендований ВООЗ Anti-IDH1R132H, методом ПЛР виявлені додаткові мутації в гені IDH1. А саме мутація IDH1^{105GGT}SNP та IDH1R132C. Отримані дані про зв'язок мутації IDH1^{105GGT}SNP з анапластичними астроцитомами та більш віддаленими рецидивами пухлин.

Розділ ілюстрован 42 рисунками та 12 таблицями. Завершується розділ підсумовуючими висновками, що висвітлюють його основні положення.

В розділі «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» представлено комплексний аналіз проведеного епідеміологічного, клініко-морфологічного, молекулярно-біологічного досліджень та статистичної обробки отриманих даних. Одержані дисертантом дані порівняно з даними інших авторів. Автор володіє знанням новітньої наукової літератури, аналізує та описує отримані результати на високому науковому рівні.

Шість висновків дисертаційної роботи обґрунтовані, базуються на отриманих результатах, містять новизну та практичне значення, логічно закінчують дослідження та відповідають поставленій меті і завданням дисертації.

Завершують дисертацію три практичні рекомендації щодо використання отриманих клінічних, молекулярно-генетичних, та імуногістохімічних даних в діагностиці та прогнозуванні розвитку рецидивів дифузних астроцитарних пухлин Grade III-IV.

Список літератури містить 141 джерело (9 кирилицею та 132 латиницею), джерела пронумеровані згідно порядку посилань на них в тексті дисертації, що відповідає вимогам щодо оформлення бібліографічних посилань.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.

Отримані дисертантом результати та сформульовані на їх основі висновки й практичні рекомендації представляють науково-практичний інтерес та можуть з позитивним діагностичним ефектом використовуватися у роботі лікарів-патологоанатомів, онкологів, нейрохірургів. Теоретичні положення роботи слід також впроваджувати у педагогічний процес при викладанні навчального матеріалу на кафедрах патологічної анатомії, онкології та нейрохірургії у вищих навчальних медичних закладах України.

Результати дисертаційного дослідження впроваджено в практичну роботу патологоанатомічного відділення Національного інституту раку; Вінницького патологоанатомічного бюро; патологоанатомічного відділення КНП «Обласна клінічна лікарня» ХОР; патологоанатомічного відділення інституту медичної радіології ім. С.П. Григор'єва, а також у навчальний процес кафедри патологічної анатомії № 2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; кафедри патологічної анатомії, судової медицини та права Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; кафедри патоморфології та судової медицини Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри патологічної анатомії Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна; кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення

Принципових зауважень щодо структури і змісту дисертації та автореферату не визначено. Наукова праця гарно скомпонована, викладена літературною мовою та побудована логічно й послідовно.

Але в дисертації мають місце деякі недоліки. В тексті роботи зустрічаються поодинокі технічні та граматичні помилки. Також доцільно б було на деяких рисунках зробити позначки (рис. 4.5, 4.16В). Зустрічаються невідповідність збільшень та мала інформативність деяких рисунків (рис. 4.9; 4.20А). На деяких малюнках для зручності оцінки імуногістохімічних змін необхідно було скоригувати колірний баланс (рис.4.23).

Загалом зазначені зауваження не мають принципового значення та носять лише редакційний характер, тому не впливають на науковий рівень та практичну цінність дослідження.

Автореферат в стислій формі відображає зміст кандидатської дисертації, основні її наукові положення та висновки.

Для дискусійного обговорення результатів дисертаційної роботи хотів би поставити її автору наступні запитання:

1. В роботі вивчалась експресія судинного ендотеліального фактора росту (VEGF). Чому паралельно не досліджувались рецептори VEGFR1 і VEGFR2, адже саме рецептор VEGFR1 бере участь в пухлинній прогресії, активуючи клітинну міграцію і інвазію деяких ліній пухлинних клітин, а рецептор VEGFR2 є біологічною мішенню антиангіогенної терапії при гліобlastомах?
2. Стосовно маркеру нейрон специфічної енолази (NSE), яка традиційно використовується для визначення постішемічних ушкоджень мозку, а також є маркером дрібноклітинного раку легень і нейроblastоми. Поясніть необхідність використання у Вашій роботі маркеру NSE?
3. Вами вивчалася експресія маркера прогестерону в пухлинах. Враховуючи що рецептори прогестерону можуть впливати на проліферацію пухлин шляхом підвищення експресії ендотеліального фактора росту (VEGF), чи є збільшення експресії прогестерону фактором який сприяє прогресії пухлин?

Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертація Чертенко Таїсії Миколаївни «Діагностика та прогноз перебігу астроцитарних пухлин головного мозку (клініко-морфологічні та молекулярно-біологічні аспекти)», що представлена до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія, є завершеною самостійно виконаною працею, в якій отримані нові дані, що в сукупності вирішують актуальну науково-практичну задачу, а саме вдосконалення морфологічної діагностики та оптимізацію прогностичних критеріїв дифузних астроцитарних пухлин на базі аналізу їх клінічних, морфологічних, імуногістохімічних та молекулярно-генетичних характеристик.

За актуальністю, обсягом проведеного дослідження, глибиною аналізу, новизною отриманих даних, обґрунтованістю і достовірністю висновків та положень дисертаційна робота Чертенко Таїсії Миколаївни «Діагностика та прогноз перебігу астроцитарних пухлин головного мозку (клініко-морфологічні та молекулярно-біологічні аспекти)» відповідає п. 11 Постанови

Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 “Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів” (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015 р. та №1159 від 30.12.2015 р.), щодо кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Офіційний опонент

Завідувач кафедри патологічної анатомії та судової медицини

Запорізького державного медичного університету

доктор медичних наук, професор



С.І. Тертишний
ПІДТВЕРДЖУЮ
Нач. відділу кадрів Запорізького
державного медичного університету
* * * 20 * * р. Підпис *С.І. Тертишний*