

ВІДГУК

офіційного опонента – доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри патологічної анатомії № 2 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України Гички Сергія Григоровича на дисертаційну роботу докторанта кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету Потапова Сергія Миколайовича «Герміногенні пухлини яєчка: клініко-морфологічна та імуногістохімічна характеристика, математичне визначення стадії пухлинної прогресії», подану до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03 при Харківському національному медичному університеті на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Актуальність теми дисертації

Пухлини яєчка складають 1-2% в структурі загальної онкологічної захворюваності серед чоловіків в індустріально розвинених країнах та уражають переважно осіб від пубертатного віку до 40 років. Протягом останніх 40 років захворюваність тестикулярними пухлинами зросла практично у 2 рази.

Герміногенні пухлини яєчка складають близько 95% в структурі пухлинних процесів пухлин яєчка і є гетерогенною групою захворювань за гістологічним типом, диференціюванням, біологічною поведінкою та клінічною картиною. Зокрема, найбільш поширена герміногенна пухлина яєчка – семінома – характеризується невідповідністю розмірів первинної пухлини та метастатичною активністю. Однією з притаманних для семіноми властивостей є метастазування при малому розмірі, проте семінома має відносно сприятливий прогноз. У групі не семіномних герміногенних пухлин яєчка ембріональний рак характеризується швидким ростом, а у 10% пацієнтів хвороба маніфестує метастазами; хоріокарцинома є найбільш

агресивною формою герміногенних пухлин яєчка зі схильністю до раннього гематогенного розповсюдження, пізньої стадії на момент діагностики та геморагічними ускладненнями. Навпаки, сперматоцитна пухлина метастазує дуже рідко і має сприятливий прогноз.

Труднощі в прогнозуванні перебігу хвороби та виборі лікувальної тактики пацієнтів із герміногенними пухлинами яєчка зумовлені також тим, що ізольовані типи герміногенних пухлин яєчка зустрічаються нечасто. На частку змішаних герміногенних пухлин яєчка припадає від 69% усіх не семіномних пухлин. Найпоширенішими варіантами є поєднання ембріонального раку з тератомою, семіномою або пухлиною жовткового мішка, проте літературні данні свідчать про можливість різних комбінацій, а часто – більше 2 типів.

Серед прогностичних критеріїв перебігу герміногенних пухлин яєчка найбільш значущим залишається система TNM з визначенням стадії захворювання. Також повинні враховуватись такі прогностичні критерії як вік пацієнтів, розмір пухлини, рівень інвазії, локалізація метастазів, гістологічний тип пухлини, переважання того чи іншого гістотипу, відмежованість фокусів пухлин різного гістотипу, наявність судинної інвазії, інвазії в оболонки яєчка, тощо. Також, важливу роль у рутинній діагностиці герміногенних пухлин яєчка відіграє імуногістохімічний метод дослідження, що дає можливість прогнозувати особливості біологічної поведінки пухлини та клінічний перебіг захворювання. Наразі актуальним є пошук прогностичних факторів перебігу герміногенних пухлин яєчка задля обрання необхідної індивідуальної лікувальної тактики та диференційованого підходу до менеджменту пацієнтів, впровадження принципів «персоніфікованої медицини». Незважаючи на значний прогрес в молекулярній онкоморфології, досі не розроблений загальноприйнятний алгоритм імуногістохімічної діагностики та не встановлена чітка панель необхідних маркерів для визначення перебігу і прогнозу герміногенних пухлин яєчка.

Окремим питанням стає дослідження пренеопластичних процесів в яєчку та визначення клініко-морфологічних і прогностичних характеристик неоплазій герміногенних клітин *in situ* (GCNIS), що, згідно класифікації WHO від 2016 р., є новим уніфікуючим терміном. GCNIS повинні бути диференційовані від інтратубулярної семіноми, інтратубулярної несеміноми, затримки сперматогенезу на стадії сперматогоній, пре-GCNIS та затримки дозрівання гоноцитів, що персистує після внутрішньоутробного та інфантильного періоду. Імовірно, всі GCNIS прогресують у інвазивні пухлини, проте, на сьогодні не встановлено єдиного підходу до визначення предикторів прогресії в семіному або несеміному.

Таким чином, актуальним є питання канцерогенезу герміногенних пухлин яєчка, удосконалення патоморфологічної діагностики даних пухлин, оптимізації критеріїв їх перебігу і прогнозу із залученням сучасних імуногістохімічних та молекулярно-генетичних методів.

Отже викладені факти підтверджують, що тема дисертаційної роботи Потапова С.М. є відповідає запитам сучасної патоморфології та онкології.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами

Представлена дисертаційна робота виконана на кафедрі патологічної анатомії та є складовою частиною науково-дослідної роботи Харківського національного медичного університету на тему: «Вивчення значення молекулярно-біологічних маркерів для прогнозу, лікування і виживання хворих з основними локалізаціями раку» (номер державної реєстрації 0114U003394, 2014–2016 рр.), у якій дисертант був безпосереднім виконавцем досліджень, що присвячені вивченню герміногенних пухлин яєчка.

Новизна дослідження та одержаних результатів

У дисертаційній роботі на підставі комплексного епідеміологічного, клініко-морфологічного, гістологічного, імуногістохімічного та морфометричного дослідження отримані нові дані щодо патоморфологічних та молекулярно-біологічних властивостей герміногенних пухлин яєчка, уточнені фактори ризику розвитку даних пухлин, а також предикторів їх агресивного перебігу та несприятливого прогнозу.

Автором було встановлено, що збільшення показників експресії Ki-67, Вах, Vcl-2 і p53 корелює з розвитком судинної інвазії, інвазією в придаток, оболонки яєчка і сім'яний канатик, а також розвитком лімфогенних і віддалених метастазів у хворих на семіному, ембріональний рак і пухлину жовткового мішка постпубертатного типу. Отримані дані узгоджуються із тенденціями та біологічною поведінкою інших злоякісних новоутворень. Доведена залежність між гістологічним типом пухлини, а також стадією пухлинної прогресії та рівнем проліферативної і апоптичної активності.

Також доведено, що по мірі зростання стадії пухлинної прогресії герміногенних пухлин яєчка відбувається посилення синтезу MMP-1, MMP-3 і MMP-9 разом з редукцією E-cadherin і підвищенням експресії β -catenin. Даний імунофенотип герміногенних пухлин яєчка корелює з агресивною біологічною поведінкою пухлин, розвитком судинної інвазії, інвазії в придаток, оболонки яєчка і сім'яний канатик, а також розвитком лімфогенних і віддалених метастазів.

Автором була детально розкрита проблематика неоангіогенезу у ГПЯ. Зокрема були виявлені особливості васкуляризації в залежності від гістологічного типу і стадії пухлинної прогресії герміногенних пухлин яєчка. Доведена асоціація між зростанням рівня васкуляризації та підвищенням інвазійних властивостей герміногенних пухлин яєчка, а також їхньої метастатичної активності.

Автором була запропонована математична модель з визначення гістологічного типу та стадії пухлинної прогресії герміногенних пухлин яєчка, що враховує комплекс молекулярно-біологічних маркерів.

Теоретичне значення результатів дослідження

Автором було отримано дані, які поглиблюють та доповнюють сучасні уявлення щодо клініко-морфологічних особливостей герміногенних пухлин яєчка. Також теоретичне значення дисертації Потапова С.М. полягає у детальному вивченні закономірностей зміни ступеня васкуляризації різних типів герміногенних пухлин яєчка, зміни проліферативної активності пухлинних клітин, їх апоптозу, зміни екстрацелюлярного матриксу і міжклітинної адгезії. Одержані дисертантом результати можуть стати теоретичним підґрунтям для розробки персоналізованої терапії та стануть корисними у навчально-педагогічному процесі закладів вищої медичної освіти.

Практичне значення результатів дослідження

Дисертаційне дослідження Потапова С.М. має суттєве практичне значення для прогнозування перебігу діагностованої герміногенної пухлини яєчка: встановлені імуногістохімічні ознаки, які корелюють з агресивним перебігом і несприятливим прогнозом. Отримані автором дані оформлені у вигляді математичних моделей з визначення гістологічного типу і стадії пухлинної прогресії герміногенної пухлини яєчка, що є важливим практичним застосуванням даної роботи. Водночас, для побудови описаних математичних моделей виникла необхідність об'єктивної оцінки експресії антигену в імуногістохімічних реакціях, що було реалізовано з одержанням патентів та може бути використано як в науковій, так і в практичній патологічній анатомії.

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

В дисертаційній роботі Потапова С.М. сформульовані нові положення, висновки і практичні рекомендації, які базуються на достатній кількості морфологічних досліджень герміногенних пухлин яєчка, на виділенні репрезентативних груп досліджень, на застосуванні адекватних, доцільних і сучасних патоморфологічних та статистичних методів аналізу отриманих результатів.

Для досягнення мети та виконання поставлених завдань дисертаційної роботи було проведено достатню кількість патоморфологічних досліджень операційного матеріалу від 301 пацієнтів на герміногенні пухлини яєчка. 54 випадки герміногенних пухлин яєчка були досліджені імуногістохімічно. Випадки ГПЯ були розділені на групи в залежності від гістологічного типу та ступеня пухлинної прогресії.

Для виконання досліджень були використані сучасні морфологічні (макроскопічний, органометричний, гістологічний, гістохімічний), імуногістохімічний, морфометричний методи із застосуванням комп'ютерного аналізу кольорових цифрових зображень.

Автором дисертації зі співавторами було отримано 2 патенти на корисну модель та 1 патент на винахід.

Імуногістохімічне дослідження проводилось з використанням 16 біомаркерів з метою оцінки рівня апоптозу, проліферативної активності, стану міжклітинної адгезії, ЕЦМ, інвазійних властивостей, ступеня васкуляризації, виявлення пухлинних ГК, триптаза-позитивних тучних клітин та оцінки імунологічних властивостей пухлини.

Достовірність отриманих результатів та висновків дисертаційної роботи засвідчується сучасними математично-статистичними методами, проведеними з використанням належного програмного забезпечення.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті

Основні положення дисертаційної роботи Потапова С.М. викладені у 42 наукових працях, зокрема, у 25 статтях, з яких 14 опубліковані у вітчизняних фахових періодичних виданнях, 5 статей у закордонних наукових періодичних виданнях (Грузія, Польща, з яких 1 стаття індексується міжнародною наукометричною базою Scopus), а також у 14 тезах в матеріалах Всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій. Отримано 2 патенти на корисну модель та 1 патент на винахід.

В авторефераті лаконічно викладені матеріали докторської дисертації, її основні положення, висновки і практичні рекомендації. Автореферат відображає головні положення дисертації та всебічно висвітлює її зміст.

Структура і зміст дисертації

Дисертаційна робота Потапова Сергія Миколайовича оформлена згідно «Основних вимог до дисертацій та авторефератів дисертацій» ДАК України, викладена державною мовою на 484 сторінках друкованого тексту і складається з анотації, вступу, переліку умовних скорочень, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 8 розділів з результатами власних досліджень, обговорення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел і додатків. Робота ілюстрована 159 малюнками (з них 107 мікрофотографій) та 76 таблицями, що займають 126 повних сторінок. Перелік використаних літературних джерел містить 555 найменування вітчизняних і зарубіжних авторів обсягом 58 сторінок, з яких кирилицею – 142, латиницею – 413.

Анотації викладені українською та англійською мовами. У стислій формі описані основні результати дослідження, наведений список публікацій здобувача за темою дисертації.

У **вступі** дисертант розкриває актуальність проблеми герміногенних пухлин яєчка, їх епідеміології, особливостей морфологічної діагностики та

диференційній діагностики, роль імуногістохімічного методу в діагностиці та визначенні прогнозу перебігу захворювання і обґрунтовує необхідність подальшого дослідження патоморфологічних особливостей герміногенних пухлин яєчка, чітко формулює мету та завдання дослідження, характеризує новизну та практичну значущість отриманих результатів.

У **першому розділі** «Огляд літератури» автор поглиблено аналізує сучасні, переважно англomовні, літературні дані щодо епідеміологічних особливостей поширення герміногенних пухлин яєчка. Проведений аналіз даних сучасної літератури щодо молекулярно-біологічних особливостей пухлинної тканини. Особливу увагу автор приділив питанню значення імуногістохімічного дослідження в діагностиці злоякісних новоутворень. Також приділяється увага сучасним можливостям та перспективам таргетної терапії пухлин.

У **другому розділі** «Матеріали і методи дослідження» автор описує дизайн та методологію дослідження, формування груп дослідження, детально описує методи, що були використані під час виконання роботи. Усі методи, зокрема гістологічні, імуногістохімічні, морфометричні, а також методи статистичної обробки даних, описані детально та указані всі їхні модифікації, у випадку використання таких. Детально описана методика комп'ютерного аналізу кольорових цифрових зображень. Даний розділ розкриває алгоритм та дизайн дослідження, використане обладнання, реактиви та методи морфологічної діагностики.

Третій розділ дисертації присвячений поглибленому епідеміологічному та клініко-морфологічному дослідженню герміногенних пухлин яєчка на основі аналізу операційного матеріалу яєчок, що був отриманий в ході орхіфунікулектомії, а також історій хвороби в період з 1998 по 2017 роки на базі Харківського обласного клінічного центру урології і нефрології імені В.І. Шаповала. За даний період були проаналізовані дані 301 пацієнта з різними гістологічними типами герміногенних пухлин яєчка. Надано патологоанатомічну характеристику герміногенних пухлин яєчка.

Досліджено взаємозв'язки ступеня пухлинного ураження яєчка герміногенними пухлинами зі стадіями T та N відповідно до pTNS класифікації.

У **четвертому розділі** роботи наведені результати макроскопічного та гістологічного дослідження, частоти зустрічальності кожного з гістологічних типів та змішаних форм герміногенних пухлин яєчка, зокрема із розподілом змішаних герміногенних пухлин яєчка за кількістю та особливостями будови компонентів.

У **п'ятому розділі** роботи наведені результати імуногістохімічного дослідження герміногенних пухлин яєчка в кожній з груп та гістологічних типів пухлин, зокрема досліджено їх проліферативно-апоптотичні процеси, стан екстрацелюлярного матриксу і міжклітинної адгезії, васкуляризацію, особливості експресії маркерів MCT1 і PD-L1. Імуногістохімічне дослідження дозволило автору отримати комплексні дані щодо молекулярно-біологічних характеристик герміногенних пухлин яєчка та визначити імуногістохімічні критерії, що характерні для кожної з 4-х груп дослідження.

Шостий розділ дисертації присвячений розробленій математичній моделі, яка дозволяє визначати гістологічний тип і стадію пухлинної прогресії герміногенних пухлин яєчка, визначено оптимальну панель диференціально-діагностичних імуногістохімічних маркерів. Наведені кваліфікаційні функції для кожного з гістологічних типів герміногенних пухлин яєчка.

У **сьомому розділі** «Теоретичне обґрунтування окремих аспектів персоналізованої терапії герміногенних пухлин яєчка» розглядається необхідність визначення молекулярно-генетичних характеристик, як ключової складової морфологічної верифікації пухлини. По кожному з досліджених маркерів надається ґрунтовна оцінка їх впливу на біологічну поведінку пухлини та доцільність таргетної терапії.

У **восьмому розділі** «Обговорення отриманих результатів» дисертантом проведений поглиблений аналіз власних досліджень, їх обговорення та

порівняння з результатами інших дослідників, що віддзеркалює новизну та практичну значущість дослідження для патоморфологічної діагностики герміногенних пухлин яєчка.

Представлені десять **висновків** дисертаційної роботи, що базуються на отриманих результатах, логічно завершують роботу, є обґрунтованими, відповідають меті та завданням дослідження.

Автором наведено п'ять **практичних рекомендацій** щодо покращення якості морфологічної діагностики герміногенних пухлин яєчка, прогнозування їх перебігу з урахуванням молекулярно-біологічних характеристик пухлини та використання математичної моделі, що також може служити основою для розробки автоматизованих систем діагностики різноманітної онкологічної патології, бути теоретичним підґрунтям для розробки персоналізованої терапії.

У **додатках** автором наведено список публікацій за темою дисертації, відомості про апробацію результатів дослідження на наукових і науково-практичних конференціях, з'їздах, конгресах.

Усі розділи у повній мірі ілюстровані фотографіями, таблицями, авторськими схемами.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їхнього змісту і оформлення

Дисертація відповідає прийнятим нормам. Її зміст та структура розкривають поставлену мету. В цілому, до викладення матеріалу та сформульованих висновків зауважень немає, проте, у окремих місцях трапляються стилістичні неточності та перевантаженість речень дієприслівниковими зворотами, а деякі мікрофотографії (4.19, 5.14, 5.23, 5.52, 5.79) мають недостатню якість та чіткість зображення. Дещо низький відсоток проведених імуногістохімічних досліджень (54 випадки із 301). Дизайн дослідження досить складний. Також, дискусійною є необхідність висвітлення суб'єктивної оцінки тривалості захворювання. Проте перераховані зауваження не знижують наукової цінності даної дисертації.

Під час рецензування роботи виникли наступні запитання до дисертанта:

1. Яка роль фактора росту ендотелію судин (vascular endothelial growth factor, VEGF) при ангиогенезі інтратуморальних судин у випадку ГПЯ? Чому даний маркер не ввійшов до досліджуваної імуногістохімічної панелі?
2. Чому серед обраних методів статистичної обробки даних при порівнянні більше двох груп водночас не був використаний критерій Краскела-Уоліса, або інші статистичні критерії, що дозволяють порівнювати дві та більше групи?
3. Опишіть детально можливість практичного застосування розробленої математичної моделі у повсякденній практиці лікаря-патологоанатома.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці

Результати дисертаційної роботи Потапова С.М. мають значне практичне значення і можуть використовуватися в практичній роботі лікарями-патологоанатомами та викладачами медичних закладів вищої освіти та післядипломної освіти при викладанні патоморфології.

Заслугують на впровадження в патологоанатомічних бюро, відділеннях, патологоанатомічних відділах та лабораторіях НДІ України запропоновані критерії гістологічної та молекулярно-біологічної діагностики і прогнозування перебігу герміногенних пухлин яєчка. Розроблена математична модель встановлення гістологічного типу і стадії пухлинної прогресії герміногенних пухлин яєчка може служити основою для розробки автоматизованих систем діагностики різноманітної онкологічної патології.

Висвітлені у дисертаційній роботі нові результати дисертаційного дослідження з позитивним діагностичним ефектом впроваджені в роботу Комунального закладу «Дніпропетровське обласне патологоанатомічне

бюро», Одеського обласного патологоанатомічного бюро, патологоанатомічного відділення Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна клінічна лікарня», Комунальної установи «Запорізьке обласне патологоанатомічне бюро» Запорізької обласної ради. Отримані нові теоретичні положення дисертаційної роботи використовуються при підготовці студентів на кафедрі загальної та клінічної патології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, кафедри патологічної анатомії і судової медицини Державного закладу «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», кафедри патологічної анатомії медичного інституту Сумського державного університету, кафедри нормальної та патологічної анатомії Одеського національного медичного університету, кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету.

Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Потапова Сергія Миколайовича на тему: «Герміногенні пухлини яєчка: клініко-морфологічна та імуногістохімічна характеристика, математичне визначення стадії пухлинної прогресії», поданої до спеціалізованої вченої ради Д 64.600.03 в Харківському національному медичному університеті на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія, є самостійним, закінченим науковим дослідженням, в якому отримані нові науково обґрунтовані результати, що у сукупності розв'язують конкретну наукову задачу з поліпшення патоморфологічної діагностики та оптимізації прогностичних критеріїв перебігу герміногенних пухлин яєчка, а також теоретичного обґрунтування таргетної терапії та розроблення математичної моделі для визначення гістологічного типу і стадії пухлинної прогресії герміногенних пухлин яєчка.

За актуальністю, обсягом проведеного дослідження, глибиною аналізу, новизною отриманих даних, науковою і практичною цінністю розробленої концепції рівня злякисності герміногенних пухлин яєчка, обґрунтованістю і достовірністю висновків та положень, повнотою викладу в опублікованих працях та рівнем вирішення поставлених завдань дисертаційна робота Потапова Сергія Миколайовича «Герміногенні пухлини яєчка: клініко-морфологічна та імуногістохімічна характеристика, математичне визначення стадії пухлинної прогресії» відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №657 від 24 липня 2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України №656 від 19.08.2015, №1159 від 30.12.2015, №567 від 27.07.2016) стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Завідувач кафедри патологічної анатомії №2

Національного медичного університету

імені О. О. Богомольця МОЗ України,

доктор медичних наук, професор

С.Г. Гичка

