

Відгук офіційного опонента

доктора медичних наук, професора

Якимової Тамари Петрівни, професора кафедри клінічної лабораторної діагностики Харківської медичної академії післядипломної освіти на дисертаційну роботу асистента кафедри патологічної анатомії Медичного інституту Сумського державного університету МОН України

Гирявенко Наталії Іванівни

«Патоморфологічні особливості первинного раку маткових труб»,

Представлену до захисту у спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03 при Харківському національному медичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія

Актуальність обраної теми дисертації.

Пухлини жіночої репродуктивної системи (ЖРС), частота яких неухильно зростає, є однією з важливих проблем сучасної медицини, зокрема онкології та гінекології (Слабкий Г.О. та ін., 2010). При значній гетерогенності структури та функції органів ЖРС є спільні етіологічні фактори, які впливають на розвиток пухлин, мають різну, або подібну гістологічну структуру, але локалізація цих пухлин обумовлює різні їх біологічні властивості, перебіг та прогноз.

Найбільш агресивний перебіг притаманний пухлинам яєчників. Ясно, що є багато актуальних питань з оптимізації профілактики, ранньої діагностики, лікування та прогнозу вищезазначених пухлин ЖРС, але первинний рак маткових труб (ПРМТ) по частоті та інформації щодо його біологічних властивостей вивчено найменше, а смертність від нього значна – 35 % - 56 % (Klein M. et al., 2002; Heintz A.P. et al., 2006; Jemal A. et al., 2011).

У світовій літературі точиться дискусія з приводу етіопатогенезу, частоти розвитку, ступеня злоякісності та шляхів метастазування ПРМТ (Jemal A. et al., 2011; Singhal P. et al., 2006). Це пов'язано з невеликою частотою розвитку

ПРМТ – 0,14 % - 1,86 % серед усіх злоякісних пухлин ЖРС. У світовій літературі в наш час описано всього близько 2000 випадків ПРМТ (Pectesides D. et al., 2009; Oliveira C. et al., 2013) і є дані, що він зустрічається у 150 разів менше, ніж рак яєчників (РЯ). При злоякісних тубооваріальних пухлинах первинність раку маткових труб часто помилково приймають за РЯ. Запальні тубооваріальні пухлини часто приймають за непластичний процес, що призводить до інвалідизуючого лікування. Іноді, навпаки, пухлинні захворювання лікують як запальні, з використанням теплових та курортних процедур, що призводить до прискорення розвитку, збільшення об'єму та навіть метастазування і нівелює шанс на видужання хворих.

Етіологія ПРМТ, частота розповсюдження, можливість своєчасної діагностики, перебіг, прогноз захворювання та методи профілактики маловідомі і мало висвітлені в літературі (Callagen M.J. et al., 2007; Kalampokas E. et al., 2013). Відомо, що ПРМТ може бути першоджерелом серозних пухлин яєчників і очеревини (Kessler M. et al., 2013; Przybycin C.G. et al., 2010; Roade C.J. et al., 2014). Наукові дослідження дають підставу вважати, що ПРМТ розвивається частіше, ніж прийнято думати. Його частота при пухлинах додатків матки досягає 15 %, а не 2-3 %, як представлено в літературі (Wilcox R. et al., 2009; Jerboe E. et al., 2008; 2009; Vaughan S. et al., 2011; Gilks C.V. et al., 2015). Але відповідно до міжнародних класифікацій ПРМТ є самостійною нозологічною одиницею і клінічною частиною спадкового синдрому раку молочної залози і яєчників і може бути пов'язано з мутацією генів-супресорів Breast Cancer genes 1 і Breast Cancer genes 2 (BRCA1 і BRCA2).

Відомо, що основним чинником, який обумовлює прогноз злоякісних пухлин, є стадія процесу. Немаловажливим фактором є ступінь диференціювання та проліферативна активність клітин, але доведено, що у хворих з однією локалізацією, гістологічною будовою та ступенем диференціювання результати лікування бувають різні (Baekelandt M. et al., 2000). Для верифікації пухлин та прогнозу перебігу пухлинного процесу важливу роль відіграє визначення специфічного фенотипу пухлин,

ідентифікація пухлинних маркерів, яка дає можливість визначити біологічні властивості пухлин та призначити найбільш оптимальний спосіб лікування. Щодо ПРМТ, то це вельми актуальна проблема, бо ця локалізація раку ЖРС ще у світі та в Україні знаходиться на початковому етапі вивчення.

Робота Гирявенко Н.І. в Україні є першою, яка привідкриває її основні особливості. Рішення частини задач проблем ПРМТ є першим на шляху її вивчення і може бути перспективою рішення і такої важливої проблеми, як профілактика, рання діагностика та лікування РЯ, яка, незважаючи на значний термін та кількість досліджень ще далека від рішення. Для встановлення клініко-морфологічних критеріїв, які мають найбільш важливе діагностичне та прогностичне значення для перебігу ПРМТ, актуальним є з'ясування всіх складових компонентів пухлин на молекулярному, клітинному та тканинному рівнях.

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

Дисертаційна робота Гирявенко Н.І. виконана відповідно до плану наукових досліджень Медичного інституту Сумського державного університету і є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії за темою «Морфогенез загально патологічних процесів» (№ державної реєстрації 013U003315) та держбюджетної програми «Морфофункціональний моніторинг стану органів і систем організму за умов порушення гомеостазу» (№ державної реєстрації 62.20.02-01.15/17.3Ф). Тема дисертації затверджена вченою радою Сумського державного університету МОН України (протокол № 9 від 09.03.2017 року). Автор є безпосереднім виконавцем фрагменту науково-дослідної роботи.

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів

У дисертаційній роботі за допомогою комплексного макро-мікроскопічного патогістологічного, імуногістохімічного та статистичного

методів вперше встановлено клініко-патоморфологічні особливості ПРМТ у значної групи хворих в окремих районах Слобожанщини.

Встановлено частоту розвитку та вивчені основні клініко-морфологічні параметри ПРМТ: гістогенез, вік, стадія процесу, ступінь диференціювання. Вперше вивчені основні молекулярно-біологічні характеристики ПРМТ – проліферативний потенціал, маркери апоптозу, неоангіогенез, пухлинне мікрооточення та гормональний статус. Встановлено, що в переважній більшості випадків ПРМТ є гормонально-залежним, що повинно брати до уваги при плануванні комплексної терапії. За допомогою сучасних інформативних імуногістохімічних методів дослідження встановлено кореляційний зв'язок між експресією несприятливих для прогнозу рецепторів ракових клітин (Ki-67, p53, VEGF) та клітинним складом перитуморального запального інфільтрату.

Теоретичне значення результатів дослідження

Отримані в дисертації нові дані поглиблюють наукове уявлення про роль естрогенного статусу для прогресії пухлин, анаплазії та проліферативного потенціалу пухлин. Дисертантом представлені схеми морфогенезу раку маткових труб за участю пошкодження апоптозу, підвищення проліферативного потенціалу та імунної клітинної реакції в пухлинах та їх оточенні.

Дослідження експресії імуногістохімічних маркерів дають можливість зрозуміти молекулярні механізми розвитку ПРМТ, які полягають в основі їх інвазивних властивостей і злоякісної прогресії.

Практичне значення отриманих результатів дослідження

Дисертантом Гирявенко Н.І. визначені пухлинні маркери при ПРМТ, які пов'язані з прогнозом перебігу злоякісних пухлин і стануть підставою для призначення найбільш оптимальних методів лікування раку цієї локалізації.

Дисертантом показано, що експресія клітинами пухлин Ki-67, p53, VEGF негативно впливає на прогноз перебігу ПРМТ.

Автором запропоновано діагностичні алгоритми, які не тільки допоможуть визначити прогноз перебігу онкозахворювання, а й індивідуалізувати лікування онкологами і хіміотерапевтами. Молекулярно-біологічні маркери, які досліджені при ПРМТ можуть бути використані в практичній роботі патологоанатомів для диференційної діагностики та прогнозу перебігу ПРМТ.

Матеріали дисертаційної роботи включено до навчального процесу на кафедрах патологічної анатомії Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Харківського національного медичного університету, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Запорізького державного медичного університету, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава).

Особливості гістологічної картини та імуноморфологічного профілю ПРМТ враховуються в роботі Сумського та Тернопільського обласних патологоанатомічних бюро.

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

При виконанні дисертаційної роботи для досягнення мети та рішення поставлених задач здобувач обрала достатню кількість хворих на ПРМТ із застосуванням адекватних, інформативних, сучасних, патологоанатомічних, імуногістохімічних та статистичних методів, які дозволяють об'єктивно оцінити біологічні властивості пухлин і ступінь їх диференціювання, виділити критерії прогнозу перебігу пухлинного процесу.

Дисертантом використано достатню кількість архівного та операційного матеріалу ПРМТ, видалених під час хірургічних операцій. Усього обстежено 71 пацієнтку. З урахуванням ступеня злоякісності та гістологічного варіанту ПРМТ загальна кількість патологоанатомічних спостережень становила 142 дослідження. Серед досліджених пухлин 93 % склали серозні аденокарциноми,

світло клітинні – 2,3 %, муцинозні – 2,8 %, а плоско клітинний рак – 2,4 % випадків. Зважаючи на те, що серозні карциноми виявляються як основний гістологічний варіант ПРМТ, саме його дисертантом відібрано для своїх досліджень. За ступенем диференціювання та злоякісності автором ПРМТ було поділено на дві групи: високого ступеня зло якості, куди ввійшли помірно- та низько диференційовані пухлини, та групу, яку склали пухлини низького ступеня злоякісності – високодиференційовані. Крім того, досліджували вік хворих, локалізацію пухлин у матковій трубці, розміри та стадію захворювання.

Для визначення імуногістохімічних диференціально-діагностичних та прогностичних особливостей карцином визначалася експресія рецепторів естрогену та прогестерону – ER та PR, p53, bcl-2, VEGF, CD3, CD79альфа, CD68, MPO, PAN-CK.

Для оцінки проліферативної активності пухлин використовували індекс Ki-67. Для визначення особливостей апоптозу та порушень у системі репарації ДНК ракових пухлин визначали рецептори до bcl-2 та p53. Стимуляцію ангіогенезу пухлин оцінювали за експресією VEGF.

Для дослідження імунного мікрооточення ПРМТ використовувались імуногістологічні методи, які включали визначення пухлинно-асоційованих макрофагів – CD68, Т-лімфоцитів – CD3, маркерів популяції В-лімфоцитів – CD79альфа та нейтрофільних і еозинофільних гранулоцитів – білка мієлопероксидази – MPO.

Для встановлення гістогенезу епітеліальної природи ПРМТ використовували моноклональні антитіла PAN-CK.

Наукові положення, висновки і практичні рекомендації дисертаційної роботи є обґрунтованими і є достовірними результатами клінічних, морфологічних, імуногістохімічних та статистичних досліджень.

Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях і в авторефераті

Основні положення дисертації повністю викладені у 19 опублікованих роботах, з них 6 статей у журналах, рекомендованих ДАК України, 4 з яких у наукових фахових виданнях України, внесених до наукометричних баз, 2 – у закордонних журналах, які індексуються наукометричною базою SCOPUS, 13 тез у матеріалах всеукраїнських і закордонних науково-практичних конференцій.

Опубліковані праці в повній мірі відображають зміст дисертаційної роботи. Основні положення дисертаційної роботи були в достатній мірі представлені і обговорені на 13 науково-практичних конференціях: на міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини» Сумського державного університету (2009, 2010, 2014, 2015, 2016, 2017), Всеросійській конференції, присвяченій 155-річчю кафедри патологічної анатомії Військово-медичної академії ім. С.М. Кірова «Актуальные вопросы патологической анатомии в мирное и военное время (2014), XII Міжнародній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання сучасної медицини» Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (2015), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я» Запорізького державного медичного університету (2015), науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної патологічної анатомії» Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (2017), медичній міжнародній конференції студентів (м. Бухарест, Румунія, 2017), 29 Європейському конгресі патологів (м. Амстердам, Нідерланди, 2017), Всеукраїнській науково-методичній конференції, що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету (2017).

Автореферат повністю коротко відображає зміст дисертаційної роботи і лаконічно висвітлює всі викладені в дисертації матеріали, її головні положення, висновки та практичні рекомендації.

Структура і зміст дисертації

Дисертація написана державною мовою на 154 сторінках і включає наступні розділи: вступ, огляд літератури, матеріал і методи досліджень, розділ власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів власних досліджень, висновків, практичних рекомендацій, додатків, списку використаної літератури.

Список використаних джерел літератури складається зі 250 наукових робіт, 19 з яких кирилицею, а 231 – латиницею. Робота ілюстрована 33 рисунками і 21 таблицею.

Вступ написано з обґрунтуванням актуальності дослідження з визначенням мети та основних завдань, вирішення яких спрямоване на досягнення основної мети роботи. Представлено інформацію про наукову новизну, практичне значення отриманих результатів та їх апробацію, об'єкт, предмет та методи дослідження.

У трьох підрозділах огляду літератури проаналізовано епідеміологічні дані, особливості гістогенезу та класифікації ПРМТ, важливі молекулярні аспекти розвитку цих пухлин і їх зв'язок з експресією імуногістохімічних маркерів, що формує розширене уявлення про стан проблеми диференціальної діагностики та прогнозування рецидивів та розповсюдження непластичного процесу. У розділі «Огляд літератури» дисертант обумовлює актуальність обраного дослідження.

У розділі «Матеріал і методи дослідження» надана вся необхідна інформація про вибрані адекватні методи дослідження, їх кількість. Докладно та послідовно описано використані методи гістологічного та імуногістохімічного аналізу із зазначенням використаних шкал оцінки експресії маркерів. Детально представлена статистична обробка даних.

Результати власних досліджень викладені у 3-му розділі дисертації. Розділ дисертації висвітлений достатньо повно. Він присвячений епідемічній характеристиці ПРМТ у Сумській області, клініко-гістоморфологічній, гістологічній та імуногістохімічній характеристиці ПРМТ. Автором проаналізована значна кількість клініко-патологоанатомічних параметрів, таких

як локалізація пухлин, розміри, форма маткової труби в залежності від локалізації пухлини, розмірів пухлин, інвазії в стінку маткової труби, стадії процесу, вміст маткової труби при наявності злоякісного новоутвору, зв'язок із ступенем злоякісності та рецидивом процесу, імуногістологічне дослідження ПРМТ.

Результати світлової мікроскопії документуються 39 якісними мікрофотографіями з докладним описанням гістологічної будови різних варіантів ступеня злоякісності аденокарцином ПРМТ, імунного оточення пухлин, імуногістохімічних реакцій, наявність метастазів у регіонарні лімфатичні вузли та тазові органи. Визначені достовірні імуногістохімічні показники аденокарцином різного ступеня злоякісності, такі як кількість об'єму пухлин солідної будови, глибини інвазії в стінку маткової труби, експресію рецепторів пан-цитокератину.

Імуногістохімічно встановлено, що 83,3 % ПРМТ були ER-рецептор позитивні, а 62,1 % - PR-позитивні. При цьому G₁ пухлини експресували рецептори обох стероїдних гормонів, а при пухлинах G₂ ER – 87 %, а PR – 70 %. При G₃ ER – 75,8 % та PR – 45,5 %. Наявність рецепторів стероїдних гормонів може бути важливою біологічною характеристикою пухлин, їх втрата або зниження експресії асоціюється з несприятливим прогнозом.

У низько диференційованих пухлинах проліферативний індекс Ki-67 перевищує 60 % обернено корелює з високим рівнем VEGF, p53 та розвиненою клінічною стадією непластичного процесу, наявністю лімфогенних та віддалених метастазів у чепець, яєчники та очеревину.

Детальний кореляційний аналіз діагностичного та прогностичного значення імуногістохімічної характеристики ПРМТ показав, що високі рівні експресії Ki-67, p53, VEGF, негативний статус стероїдних гормонів та білка bcl-2 є прогностично несприятливим фактором.

Достойністю досліджень дисертанта Гиравенко Н.І. є висновок, що гіперсекреція bcl-2 при ПРМТ є позитивним прогностичним фактором, на відміну висновкам досліджень закордонних авторів (Wang F. et al., 2011).

Здобувач пояснює свої висновки, що односпрямоване підвищення bcl-2 та рецепторів стероїдних гормонів несе позитивний прогноз у зв'язку з естроген-залежністю гена bcl-2 (Dawson S.-J. et al., 2010).

Імуногістохімічний аналіз пухлинного мікрооточення ПРМТ включав кількісний підрахунок CD3+-пухлинно-асоційованих Т-лімфоцитів та субпопуляцій пухлинно-інфільтруючих В-лімфоцитів і плазматичних клітин – CD79+, клітин гістіоцитарного ряду CD68+, гранулоцитних форм лейкоцитів – нейтрофільних та еозинофільних гранулоцитів – МРО+.

Наявність пухлинно-інфільтруючих імунокомпетентних клітин виявлено у 40,9 % випадків і важливо, що він був присутній у 67 % пухлин з низьким ступенем диференціювання. Більш того, низький вміст CD3+-Т-лімфоцитів, асоційований з підвищеним рівнем CD79альфа+ - В-лімфоцитів та CD68+ - макрофагів виявлений при несприятливому перебігу пухлинного процесу.

У четвертому розділі дисертації «Аналіз і узагальнення результатів власних досліджень» автор приводить підсумки основних положень дисертації на підставі отриманих власних досліджень та співставлення їх з даними наукової літератури, що дозволило визначити конкретну новизну отриманих результатів. Високий рівень досліджень дає можливість не тільки зробити важливі висновки, а й відтворити чотири схеми канцерогенезу за участю рецепторів стероїдних гормонів, індекса проліферації Ki-67, регуляторів апоптозу p53 та bcl-2 і макрофагів. Більш того, дисертантом Гирявенко Н.І. представлено схему прогресування пухлинного процесу в залежності від мікрооточення, стероїдних гормонів, індексу проліферації.

Для практичного використання прогностичних критеріїв перебігу ПРМТ здобувачем запропоновано схему індивідуальної терапії хворих в залежності від наявності та ступеня виразності експресії рецепторів стероїдних гормонів – гормональна терапія, проліферативного потенціалу – Ki-67 та маркера апоптозу p53 - хіміотерапія, а при високих рівнях експресії VEGF – анти-VEGF-терапія, що може поліпшити результати лікування, покращити якість життя та прискорити видужання.

У дисертації наводяться шість висновків, які повністю базуються на результатах достатньої кількості власних досліджень, обґрунтовані кількісними даними та логічно завершують роботу у відповідності з поставленою метою і завданням дослідження. Позивачем одержані принципово нові результати до біологічної властивості ПРМТ. Наукова робота завершується поданням практичних рекомендацій щодо диференціальної діагностики злоякісних пухлин маткових труб, які клінічно ведуть себе як вельми злоякісні пухлини, а також прогнозувати прогресію цих пухлин та можливі рецидиви.

Недоліки дисертації та автореферату згідно їх змісту і оформленню

Принципових зауважень щодо структури і змісту дисертації та автореферату немає. Однак є певні зауваження та побажання.

1. У висновках і в розділах дисертації автор зазначає, що той чи інший досліджений фактор корелює зі ступенем злоякісності або розповсюдженням пухлин, не вказуючи, який же це ступінь диференціювання чи стадія захворювання за ВООЗ.

2. Деякі підписи під рисунками (3.6; 3.7; 3.13 та ін.) не мають чіткого сенсу. Наприклад, «аденокарцинома низького ступеня злоякісності: папілярні структури». Доцільно було б продовжити: «які помилково можна верифікувати як виразну проліферацію епітелію маткових труб».

3. Мають місце неточності в оформленні дисертаційної роботи: найменування підрозділів 2.2.2 та 3.3 у тексті та змісті дещо різняться.

4. У практичних рекомендаціях немає зазначення відділів маткової труби, які обов'язково повинні підлягати гістологічному дослідженню.

Вказані недоліки не впливають на високу оцінку результатів дисертаційної роботи, науковий рівень і достовірність нових положень та висновків.

Для дискусійного обговорення результатів дисертаційної роботи хотіла б поставити автору наступні запитання:

1. Якщо p53 – проапоптозний білок, при злоякісних пухлинах підлягає

мутації і сприяє їх прогресії, а антиапоптозний білок bcl-2 при ПРМТ не виступає як маркер прогресії у зв'язку з естрогенною залежністю, то щодо пухлин, які не мають експресії естрогенів, або мають їх низькі показники? Чи були у Вашій роботі такі співставлення?

2. При диференційованих епітеліальних новоутвореннях апоптозні процеси не так виразні, як у анопластичних і неепітеліальних пухлинах. Чи може бути високий рівень експресії антиапоптозного білка bcl-2 доказом механізму канцерогенезу на ранніх стадіях? І чи не можна виразну експресію білка p53 на різних стадіях розвитку пухлин розглядати як захисну реакцію проти метастазування та прогресії непластичного процесу, а не як її промоцію?

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці

Сформульовані дисертантом на основі результатів дослідження висновки та практичні рекомендації заслуговують широкого впровадження у діагностичну роботу лікарів-патологоанатомів обласних патологоанатомічних бюро і патологоанатомічних відділень міських лікарень, у відділах патоморфології і патоморфологічних лабораторіях науково-дослідних інститутів.

Результати дослідження слід впровадити у педагогічний процес при викладанні учбового матеріалу на кафедрах патологічного, онкологічного та гінекологічного профілю у вищих навчальних медичних закладах України.

Результати дисертаційного дослідження включено до навчального процесу на кафедрах патологічної анатомії Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Харківського національного медичного університету, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Запорізького державного медичного університету, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава).

Особливості гістологічної картини та імуноморфологічного профілю

ПРМТ враховуються в роботі Сумського та Тернопільського обласних патологоанатомічних бюро.

Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертація Гирявенко Наталії Іванівни «Патоморфологічні особливості первинного раку маткових труб», 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 науково обгрунтовані результати, що в сукупності вирішують актуальну науково-практичну задачу діагностики та прогнозу перебігу первинного раку маткових труб шляхом комплексної оцінки результатів патоморфологічних методів.

За актуальністю, сучасним методичним рівнем виконання, новизною і практичним значенням отриманих результатів обгрунтованістю наукових положень і рекомендацій, їх достовірністю і повнотою викладання в опублікованих працях дисертаційна робота Гирявенко Наталії Іванівни повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015, № 567 від 27.07.2016) відносно кандидатських дисертацій за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук.

Професор кафедри клінічної
лабораторної діагностики
Харківської медичної академії
післядипломної освіти,
доктор медичних наук, професор



Т.П. Якимова