

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Данилова Валерия Ивановича на диссертационную работу Ступака Евгения Вячеславовича «ОнкомикроРНК в диагностике и прогнозе у больных с супратенториальными глиомами головного мозга», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 – нейрохирургия

Актуальность темы диссертации. Актуальность диссертационного исследования обусловлена неудовлетворительными результатами комплексного лечения глиом головного мозга, которые составляют от 50 до 55% среди первичных внутримозговых опухолей. Среди них наиболее агрессивными новообразованиями являются глиобластомы. У пациентов с незрелыми глиомами, несмотря на стандартное комплексное лечение, заболевание прогрессирует и заканчивается летальным исходом. Молекулярно-генетический профиль глиом головного мозга лучше коррелирует с прогнозом и течением заболевания, чем существующая гистологическая характеристика. Именно от генетических характеристик глиом зависит дальнейшее назначение адекватных адьювантных методов лечения. Новые данные о молекулярно-генетическом профиле данной группы опухолей, имеющих доказанное влияние на прогноз заболевания, будут пополнять и совершенствовать новую классификацию ВОЗ. Одним из перспективных направлений ее оптимизации и совершенствования комбинированного лечения злокачественных интракраниальных глиом является изучение роли микроРНК в патогенезе их развития. Последние литературные данные указывают на то, что микроРНК не только ассоциированы с различными типами опухолей, но могут выступать в роли онкогенов и супрессоров новообразований наряду с соматическими мутациями в генах, то есть быть первопричиной злокачественных трансформаций.

Работа Е.В. Ступака раскрывает роль онкомикроРНК в диагностике и прогнозе течения заболевания больных с супратенториальными глиомами головного мозга, дает объективное представление об их специфическом профиле и помогает дифференцировать глиомы разной степени злокачественности. В связи с этим выполненная диссертационная работа по изучению уровней экспрессии микроРНК в тканях глиом в сопоставлении с клиническими, морфологическими данными является, несомненно, актуальной и имеет прикладное и фундаментальное значение.

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки. Диссертационное исследование Ступака Евгения Вячеславовича «ОнкомикроРНК в диагностике и прогнозе у больных с супратенториальными глиомами головного мозга» выполнено в соответствии с планом НИР ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Обоснованность представленных на защиту положений, выводов и рекомендаций определяется достаточным объемом клинического материала. Проведено комплексное изучение клинических результатов лечения 118 больных с супратенториальными глиомами головного мозга различной степени злокачественности, у которых использованы современные методы диагностики (клинические, морфологические и молекулярно-генетические), хирургические и адьювантные методы лечения. Все больные оперированы в отделении нейрохирургии Новосибирского НИИТО с 2014 по 2017 год и получили комплексное лечение, включающее химию и лучевую терапию. Автором полно проанализированы результаты аналогичных исследований по теме диссертации и проведено сопоставление собственных результатов с данными мировой литературы.

Все методы исследования современны и информативны. Статистический анализ результатов проведен корректно. Выводы диссертации соответствуют задачам исследования и базируются на результатах представленной научной работы. Цель исследования достигнута.

Научная повизна исследования Е.В.Ступака очевидна.

Автором разработан оригинальный «Способ интраоперационного забора биоптата глиомы и морфологически неизменной ткани головного мозга для молекулярно-генетических исследований», на который получен патент Российской Федерации № 0002651749.

Впервые на основе набора 10-и микроРНК определен уникальный профиль для глиом головного мозга различной степени злокачественности и ткани неизменного мозга. Для двух онкогенных микроРНК: микроРНК-221 и микроРНК-21 и для трех онкосупрессорных микроРНК: микроРНК-31, микроРНК-124 и микроРНК-223 наблюдались наиболее ярко выраженные различия между опухолевой и прилежащей морфологически неизменной тканями головного мозга человека. Для глиом разной степени злокачественности головного мозга с учетом степени их злокачественности были выявлены специфические профили экспрессии микроРНК. Доказано, что уровни экспрессии отдельных микроРНК (-31, -124, -21, -221 и -223) могут использоваться в качестве маркеров в оценке степени злокачественности новообразования, а использование данных экспрессии сразу нескольких микроРНК (-21, -221, -223, -125b, -191, -124) позволяет диагностировать глиомы разной степени злокачественности с большей диагностической точностью.

Детекцией микроРНК с помощью технологии NanoString установлено, что в тканях глиом различной степени злокачественности (grade II и grade III, grade II и grade IV) имеется достоверное увеличение уровня экспрессии микроРНК-199b. Напротив, уровень экспрессии микроРНК-144 и микроРНК-182 являлся сниженным. Также выявлено достоверное 10-кратное повышение показателей экспрессии микроРНК-7 между опухолями grade II и grade IV.

Для различия между II и III, II и IV степенями анаплазии глиом наиболее подходящими оказались четыре микроРНК: -144, -182, -199b и -7. Полученные достоверно дифференцируемые различия показателей экспрессии этих четырех микроРНК в данных типах глиом могут являться дополнительными маркерами, позволяющими отличить быстро растущие злокачественные глиомы (grade III и grade IV) от медленно растущих опухолей (grade II) и своевременно назначить адекватное лечение.

Диагностическая панель, созданная на основе изучаемых микроРНК, позволила различать доброкачественные опухоли и злокачественные новообразования и разработать новый «Способ дифференциальной диагностики глиом головного мозга человек», на который получен патент Российской Федерации № 2583871.

Проведенный регрессионный анализ по методу Кокса выявил четыре микроРНК (-31, -21, -221 и -223), уровень экспрессии которых достоверно связан со сроками выживаемости пациентов. Впервые показано, что такие факторы, как повышенная экспрессия микроРНК-31, микроРНК-21, микроРНК-223 и микроРНК-221, отсутствие в комплексном лечении химио- и лучевой терапии и возраст старше 48 лет, достоверно коррелировали с резким снижением выживаемости пациентов, что позволяет использовать эти микроРНК в качестве прогностических маркеров выживания больных с супратенториальными глиомами головного мозга. На основании полученных результатов оформлена заявка на предполагаемое изобретение «Способ определения прогноза выживаемости больных с глиомами головного мозга Grade II – Grade IV», на которое получена приоритетная справка № 2019121528 от 10.07.2019 года.

Значимость для науки и медицинской практики полученных автором диссертации результатов

В нейрохирургической практике в ситуациях с неясной патоморфологической картиной опухоли результаты уровней экспрессии отдельных микроРНК (-31, -124, -21, -221 и -223) могут использоваться в качестве маркеров в оценке степени злокачественности новообразования. Уровень экспрессии нескольких микроРНК (-21, -221, -223, -125b, -191, -124) может быть применим при установлении степени злокачественности глиом

головного мозга. Кроме этого, для дифференцировки между II и III, II и IV степенями анаплазии глиом можно использовать еще четыре микроРНК: -144, -182, -199b и -7.

Повышенная экспрессия четырех микроРНК (-31, -21, -223 и -221) в тканях глиом головного мозга позволяет прогнозировать течение опухолевого процесса у больных с супратенториальными глиомами головного мозга и свидетельствует о его неблагоприятном прогнозе.

Положительным представляется также внедрение и применение полученных результатов в клиническую практику нейрохирургического отделения ФГБУ «НИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, а также в работу нейрохирургического отделения областной клинической больницы г. Новосибирска. Полученные данные используются в педагогическом процессе обучения ординаторов ФГБУ «НИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, а также могут быть использованы в обучающем процессе и клинической работе других специализированных нейрохирургических отделений и в медицинских учреждениях.

Оценка содержания работы. Диссертационное исследование Ступака Евгения Вячеславовича построено по классической схеме, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Диссертационная работа изложена на 159 страницах, содержит 34 таблицы, 26 рисунков.

Во введении отражены актуальность проблемы, сформулированы цель, задачи, представлены научная новизна и практическая значимость диссертационной работы, положения диссертации, выносимые на защиту, сведения об апробации, публикациях и внедрении результатов исследования, указан личный вклад автора, представлена структура данной работы.

В первой главе представлен обзор литературы о современном состоянии проблемы лечения глиом головного мозга. Подробно описаны новые стратегии комбинированного их лечения. Изложена роль микроРНК в диагностике глиом головного мозга. Для этого было проанализировано 230 литературных источников.

Во второй главе дана подробная характеристика материалов и методов исследования. Материалом для клинико-генетических исследований, положенных в основу настоящей работы, послужили микрообразцы супратенториальных глиом головного мозга различной степени злокачественности и внешне неизменной ткани головного мозга, расположенной не менее чем 2 см от новообразования. Отбор образцов выполнялся интраоперационно у 118 человек, прооперированных в Новосибирском ФГБУ НИИТО в период с 2014 по 2017 годы с данной патологией. Для этого автором разработан оригинальный малотравматичный способ интраоперационного забора опухолевой и морфологически неизменной мозговой ткани у одного и того же пациента под нейронавигационным контролем, что повышает достоверность проводимых исследований. Получен патент № 0002651749 Российской Федерации.

В третьей главе описаны результаты анализа молекулярно-генетических особенностей исследуемых супратенториальных глиом головного мозга. На основании изучения уровней экспрессии 10 исследуемых микроРНК субтенториальным глиомам всех степеней злокачественности и внешне неизменной ткани головного мозга установлено, что эти новообразования отличаются по своему профилю от нормальной ткани мозга.

Четкие различия показателей экспрессии четырех микроРНК в данных типах глиом, наряду с гистологическим диагнозом, могут являться дополнительными маркерами, позволяющими отличить злокачественные глиомы (III и IV степени) от медленно растущих опухолей (II степень) и своевременно назначить адекватное лечение. Полученные данные, характеризующие молекулярно-генетический профиль глиом головного мозга, могут быть использованы в качестве дополнительных маркеров,

позволяющих повысить точность и информативность цитологических и гистологических заключений и своевременно назначить адекватное лечение.

На основании выявленной специфичности профилей экспрессии микроРНК, характерных для супратенториальных глиом разной степени злокачественности человека, автором разработан оригинальный «Способ дифференциальной диагностики глиом головного мозга человека», на который получен патент Российской Федерации № 2583871.

В четвёртой главе на основании комплексного обследования пациентов, включающих морфологическую принадлежность опухоли, степень ее злокачественности, вида комплексного лечения, продолжительность жизни - сроков выживаемости пациентов после операции, их возраста, функционального состояния по шкале Карновского, степени радикальности выполненной операций и определения профилей экспрессии 10-и микроРНК была определена прогностическая значимость последних как предикторов выживаемости. В исследуемую группу вошли 107 пациентов.

Автором на основании проведенного регрессионного анализа Кокса, метода ROC-анализа установлено, что повышенная экспрессия четырех микроРНК: микроРНК-31 (KP=1,221; ДИ 95 % 1,016-1,467; $p < 0,0335$), -21 (KP=1,228; ДИ 95 % 1,073-1,407; $p < 0,0030$), -221 (KP= 0,814; ДИ 95 % 0,683-0,970; $p < 0,0216$) и -223 (KP=1,106; ДИ 95 % 1,002-1,002; $p < 0,0460$), отсутствие в комплексном лечении таких адьювантных методов терапии как химио-, и лучевая, возраст свыше 48 лет, достоверно коррелировали с резким снижением выживаемости пациентов. Эти данные возможно использовать в качестве предикторов выживания больных с глиомами головного мозга. Полученные данные позволили оформить заявку на предполагаемое изобретение «Способ определения прогноза выживаемости больных с глиомами головного мозга grade II – grade IV», на которую получена приоритетная справка № 2019121528 от 10.07.2019 года.

В связи с развитием персонализированного подхода к лечению глиом головного мозга результаты исследования данной главы могут быть использованы в клинической практике: экспрессии четырех микроРНК могут помочь клиницистам выявить пациентов, относящихся к группе высокого риска, с целью разработки и проведения более эффективной адьювантной терапии в дополнение к стандартному протоколу лечения.

Раздел «Заключение» является сопоставлением полученных данных с современными сведениями, обсуждением их новизны и значимости. Выводы конкретны, полностью отражают полученные данные и закономерно вытекают из представленного материала. Практические рекомендации, список сокращений, список литературы оформлены в соответствии с требованиями и содержит 230 источников, включая 57 отечественных и 173 зарубежных. Автореферат написан по стандарту и в полной мере отражает содержание диссертации.

Результаты исследования с достаточной полнотой отражены в печатных работах автора. По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 3 статьи в журнале, включённом в международные библиографические и реферативные базы данных SCOPUS. Результаты диссертационной работы внедрены в научно-исследовательскую, клиническую и педагогическую практику ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л.Цивьяна» Минздрава России.

Достоинства и недостатки работы. Работа написана грамотным языком, хорошо структурирована, логично выстроена. Принципиальных замечаний о работе нет. Небольшие стилистические погрешности не снижают значимости работы.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Результаты и практические рекомендации диссертационного исследования целесообразно использовать в работе нейрохирургов специализированных отделений областных, краевых и республиканских больниц, в специализированных клиниках научных центров, а также в учебном процессе на кафедрах нейрохирургии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ступака Евгения Вячеславовича на тему «ОнкомикроРНК в диагностике и прогнозе у больных с супратенториальными глиомами головного мозга», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 – нейрохирургия, является законченной научно-исследовательской квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научно-практической задачи: на основании клинических результатов комплексного лечения глиом головного мозга показана прогностическая значимость микроРНК в диагностике глиом головного мозга, степени их злокачественности и потенциальных предикторов выживания больных, что имеет существенное значение для нейрохирургии. По своей актуальности, объему выполненных исследований, новизне и научно-практической значимости диссертационная работа Ступака Евгения Вячеславовича соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 – нейрохирургия.

Официальный оппонент: доктор
медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой неврологии и
нейрохирургии факультета повышения
квалификации и профессиональной
переподготовки специалистов ФГБОУ ВО
«Казанский ГМУ Минздрава России»,
заслуженный врач РТ и РФ


Данилов Валерий Иванович

420012, г. Казань ул. Булгаровская, д. 49
тел. +7 (843) 236-06-52;
e-mail: glebda@yandex.ru



Подпись проф. В.И. Данилова заверяю.
Учёный секретарь Учёного Совета ФГБОУ
ВО Казанский ГМУ Минздрава России,
д.м.н., доцент О.Р. Радченко
« 14 » ноября 20 19 г.