

УТВЕРЖДАЮ  
Заместитель генерального директора  
Федерального государственного  
бюджетного учреждения  
«Национальный медицинский  
исследовательский центр имени В.А.  
Алмазова» Министерства  
здравоохранения Российской  
Федерации  
Доктор медицинских наук, профессор,  
член-корреспондент РАН  
\_\_\_\_\_ А.О.Конради



### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертацию Ступака Евгения Вячеславовича «ОнкомикроРНК в диагностике и прогнозе у больных с супратенториальными глиомами головного мозга», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 – нейрохирургия.

#### **Актуальность темы.**

Диссертационное исследование Ступака Евгения Вячеславовича посвящено актуальной проблеме в нейрохирургии – диагностике и прогнозу заболеваний больных с супратенториальными глиомами головного мозга на основании изучения уровней экспрессии микроРНК при помощи полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Актуальность исследования обусловлена значительным удельным весом (50 - 55 % случаев) глиом среди первичных внутримозговых опухолей. Прогноз для данных пациентов остается неблагоприятным, несмотря на все достижения и разработки различных методов их лечения в последние десятилетия. Так средняя продолжительность жизни больных

злокачественными глиомами составляет 18-23 мес. для анапластических астроцитом и 12-15 мес. для глиобластом.

Несмотря на комплексный подход в лечении данного вида новообразований, пациентам не удастся сколько-нибудь продлить жизнь. Исследования молекулярно-генетического профиля глиом головного мозга в настоящее время являются приоритетными и они послужили основой в современной классификации опухолей головного мозга (2016 г.), поскольку она лучше коррелирует с прогнозом и течением заболевания, чем прежняя гистологическая характеристика. От variability генетических характеристик зависит дальнейшее назначение адьювантных методов лечения. Несомненно, по мере накопления новых данных о биологических особенностях и генетическом профиле глиом головного мозга, имеющих доказанное влияние на прогноз заболевания, данная классификация будет обязательно пополняться и совершенствоваться. Представляется, что одним из направлений ее совершенствования и, соответственно, оптимизации комбинированного лечения злокачественных интракраниальных глиом является изучение роли микроРНК в патогенезе их развития. Последние исследования показали, что микроРНК не только ассоциированы с различными типами опухолей, но могут и сами выступать в роли онкогенов и супрессоров новообразований наряду с соматическими мутациями в генах, то есть быть первопричиной злокачественных превращений.

Поэтому завершённое научное исследование Е.В. Ступака, посвящённое исследованию онкомикроРНК в прогнозе у больных супратенториальными глиомами головного мозга является актуальным и существенно важным для нейрохирургии и онкологии.

**Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

В завершённом научном исследовании Е.В. Ступака получены новые данные значения микроРНК в процессах онкогенеза головного мозга человека и их связи с различными типами опухолей и их роли в онкогенезе и

супрессии новообразований, наряду с соматическими мутациями и генами. Выявлен ряд микроРНК, являющихся маркерами злокачественности опухоли, что позволяет уточнить степень злокачественности глиом головного мозга и служить прогностическими критериями исходов заболевания. В работе на основании определения 800 микроРНК в образцах ткани глиом головного мозга и морфологически неизменной ткани головного мозга выделены 10 микроРНК, которые отличались достаточным уровнем экспрессии и, главное, отличались различной экспрессией между глиомами Grade I-IV. При этом автором были установлены 4 микроРНК, которые позволили дифференцировать злокачественные глиомы (Grade III-IV) от медленно растущих глиом (Grade II), что позволило проводить адекватное лечение пациентов в зависимости от степени злокачественности опухоли. Эти данные, характеризующие молекулярно-генетический профиль глиом головного мозга, могут быть использованы в качестве дополнительных маркеров, позволяющих повысить точность и информативность цитологических и гистологических заключений.

Научные положения, выводы и практические рекомендации, сделанные автором, обоснованы достаточным объемом выборки, адекватным обследованием пациентов, использованием информативных и соответствующих поставленной цели методов статистического анализа. Четкая формулировка цели и задач исследования, а также продуманный дизайн исследования показывают методическую подготовленность автора.

#### **Научная и практическая значимость диссертации.**

Автором впервые на основе набора 10-и микроРНК определен уникальный профиль для глиом головного мозга различной степени злокачественности и ткани неизменного мозга.

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.

Установлено, что для определения различия между II и III, II и IV степенями анаплазии глиом наиболее подходящими оказались четыре микроРНК: -144, -182, -199b и -7. Выявлено, что 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. Новизна проведенного исследования Е.В. Ступака также подтверждена получением патента «Способ интраоперационного забора биоптата глиомы и морфологически неизменной ткани головного мозга для молекулярно-генетических исследований», на который получен патент Российской Федерации № 0002651749.

#### **Общая характеристика структуры и содержания работы.**

Диссертационная работа Е.В. Ступака является завершенным научным трудом. Область проведенного диссертационного исследования полностью соответствует научной специальности 14.01.18 – нейрохирургия. В научном исследовании Е.В. Ступака выявлены специфические профили экспрессии микроРНК, позволяющие быстро и точно установить тип злокачественности опухоли и, соответственно, своевременно проводить адекватную терапию пациентов, что существенно важно в клинической практике. Автором диссертации установлено, что повышенная экспрессия 4-х микроРНК (-31, -21, -223, -221) в тканях глиом головного мозга достоверно коррелирует со снижением выживаемости пациентов и является существенно важным прогностическим фактором, который должен быть учтен при проведении адьювантной терапии после хирургического лечения. В отличие от результатов, полученных другими авторами, в данной работе впервые доказано значение экспрессии отдельных микроРНК на прогноз заболевания и возможности проведения дифференциальной диагностики степени злокачественности опухоли.

Работа построена по классической схеме. Исследование основано на достаточном количестве наблюдений, применялись современные методы обследования и лечения. Проведено комплексное изучение клинических результатов лечения 118 больных с супратенториальными глиомами

головного мозга, у которых использованы современные методы диагностики, клинические, молекулярно-генетические, хирургические и адъювантные методы лечения.

Все методы исследования обоснованы, имеют современный уровень, информативны и раскрывают цель и задачи диссертационной работы. Статистический анализ результатов проведен корректно. Выводы диссертации соответствуют задачам исследования и базируются на результатах представленной научной работы.

Диссертационное исследование Ступака Евгения Вячеславовича построено по классической схеме, работа изложена на 181 страницах, содержит 28 таблицы, 48 рисунков, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, содержащего 232 источников, включая 31 отечественных и 201 зарубежный источник.

Оформление диссертации соответствует требованиям ВАК. По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 3 статьи в журналах, включенных в международные библиографические и реферативные базы данных SCOPUS.

Результаты работы внедрены в научно-исследовательскую, клиническую и педагогическую работу «ННИИТО имени Я.Л. Цивьяна» МЗ РФ.

Автореферат полностью отражает основные положения диссертации. Стиль изложения материала отличается научным подходом и качественно передает содержание диссертации. Достоверность полученных результатов подтверждена репрезентативным объемом выборки, использованием современных методов исследования и адекватных методов статистической обработки результатов.

Выводы соответствуют цели и задачам исследования, логически вытекают из полученных результатов. Практические рекомендации корректны, научно обоснованы и могут быть использованы как в практической лечебной, так и в научно-исследовательской работе.

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

При рецензировании работы возникли вопросы, на которые необходимо получить ответы в ходе дискуссии при публичной защите:

1. Автором выявлены различия в экспрессии микроРНК между опухолями II-III и II-IV степени злокачественности, но не обнаружены различия между опухолями III-IV степени злокачественности, хотя продолжительность их жизни существенно различается и составляет при глиобластомах 12-14 мес., а при анапластических астроцитомах – 18-23 мес. Имеет ли автор диссертации объяснение данному феномену?
2. Лишь половина больных (55%) в наблюдениях автора получила после операции в полном объеме адьювантную терапию. При определении прогностической значимости экспрессии 4-х микроРНК учитывалось ли это обстоятельство и проводилась ли оценка кривых Каплана-Мейера по отдельности в зависимости от степени злокачественности опухоли по группам злокачественности II, III, IV и проведения или отсутствия адьювантной терапии?
3. При глиобластомах в зоне мозга, расположенного на расстоянии больше, чем на 2-4 см от края визуализированной опухоли содержится 1,8 % опухолевых клеток (Robins M., Weinfeld F.D., 1997). Поэтому биоптаты мозга, взятые на расстоянии более 2-х см при глиобластомах вряд ли могут быть рассматриваемы как морфологически неизменный мозг.
4. Обращает внимание, что средний уровень качества жизни больных по шкале Карновского в наблюдениях автора

значительно снижался после операции: с 76,1 до 66,1 балла. Чем это можно объяснить? Локализацией и распространенностью опухоли или же хирургической травмой при стремлении к большей тотальности удаления опухоли?

Принципиальных замечаний по работе нет. Вопросы носят уточняющий характер и могут служить поводом для дискуссии на публичной защите и не снижают положительной оценки завершеного диссертационного исследования.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.**

Диссертационная работа Ступака Евгения Вячеславовича «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, выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора С.С. Рабинович и научной консультации канд.биологических наук С.Е. Титова, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научно-практической задачи: доказательство прогностической значимости микроРНК в диагностике глиом головного мозга, определении степени злокачественности глиом и потенциальной возможности использовать эти данные как предикторов выживания больных.

По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, достоверности и практической значимости полученных результатов, работа соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 – нейрохирургия,



Отзыв обсужден и одобрен на заседании Проблемной комиссии по нейрохирургии, неврологии, лучевой диагностике и лучевой терапии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 3 от 18 октября 2019 года.

Отзыв подготовил:

Главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории нейроонкологии РНХИ им.проф. А.Л.Поленова – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ,

Доктор медицинских наук, профессор Олюшин Виктор Емельянович

e-mail: fed\_56@mail.ru

Телефон: +7(921)997 92 85



В.Е. Олюшин

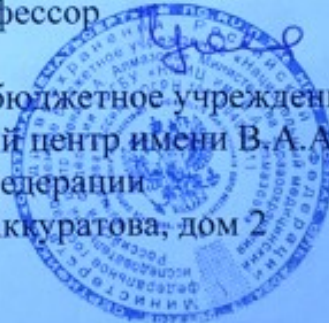
Подпись проф. В.Е. Олюшина ЗАВЕРЯЮ:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ им.В.А.Алмазова» Минздрава России

Доктор медицинских наук, профессор

А.О.Недошивин

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, дом 2  
E-mail: fmrc@almazovcentre.ru



18 октября 2019 г.