

ВІДГУК

офіційного опонента – доктора медичних наук, старшого наукового співробітника Хоперії Вікторії Геннадіївни, завідувача кафедри фундаментальної медицини ННЦ «Інститут біології і медицини» Київського університету ім. Т.Г. Шевченка – на дисертаційну роботу Зелінської Ганни Володимирівни «Цитологічні аспекти радіоїодрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози та алгоритм їх передопераційного прогнозування», подану до захисту в Спеціалізовану вчену раду Д 26.558.01 з ендокринології в Державній установі «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за фахом - 14.01.14 – ендокринологія

Актуальність теми дисертації, її зв'язок з науковими програмами

Актуальність проблеми визначається тим, що попри сприятливий прогноз для більшості хворих на диференційований рак щитоподібної залози в 4-20% випадків формуються радіоїодрезистентні метастази, клітини яких не здатні до накопичення радіоїоду, отже, радіоїодтерапія для них є неефективною. Втрата клітинами раку щитоподібної залози здатності до накопичення радіоїоду корелює з виживанням хворих, середня медіана якого знижується до 2,5-3,5 року в пацієнтів із віддаленими радіоїодрезистентними метастазами. Крім того, запізнення у виявленні метастазів, безумовно, значно погіршує показники виживання таких хворих. Найбільш адекватним методом раннього прогнозування поведінки пухлин є передопераційна цитологічна діагностика. Відомі приклади використання цитологічних методів для прогнозування поведінки пухлин і визначення подальшої тактики терапії, зокрема гормонального статусу пухлин молочної залози та типу лейкозів. Передопераційне прогнозування радіоїодрезистентності папілярних карцином можливо лише на підставі визначення цитологічних особливостей їх клітин, але аналіз літератури демонструє, що ані в Україні, ані за кордоном не проводилися дослідження пункційного матеріалу радіоїодрезистентних тиреоїдних метастазів.

Описано результати досліджень гістологічного матеріалу радіюодрезистентних метастазів папілярних карцином щитоподібної залози та визначення деяких їх гістологічних й імуногістохімічних особливостей, асоційованих з агресивною поведінкою пухлин і радіюодрезистентністю. Водночас немає даних щодо подібних досліджень на пункційному матеріалі радіюоднечутливих метастазів. Натомість саме дослідження, проведені на матеріалі тонкогілкових аспіраційних пункційних біопсій радіюодрезистентних метастазів папілярних тиреоїдних карцином можуть виявити цитологічні особливості їх клітин і дозволити розробити нові ефективні методи передопераційного прогнозування радіюодрезистентності. Такі методи можуть дати клініцистам інструменти раннього прогнозування поведінки пухлин і можливого розвитку радіюодрезистентності та допомогти визначити найбільш адекватну тактику лікування. Відсутність наукових даних про особливості клітин радіюодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози спонукала автора до проведення комплексного дослідження з метою виявлення їх цитологічного, імуноцитохімічного та цитохімічного профілю, на підставі чого можливо розробляти методи передопераційного прогнозування радіюодрезистентності. Отже, тема представленої дисертаційної роботи є надзвичайно актуальною, а проведені дослідження – доцільним і вчасним.

Дисертаційну роботу виконано в Державній установі «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» згідно з планом науково-дослідних робіт. Вона є фрагментом науково-дослідних робіт: «Діагностика та клінічна оцінка лікування регіонарних і віддалених метастазів диференційованого раку щитоподібної залози в хворих, які були дітьми або підлітками на момент аварії на ЧАЕС» (2014-2016 рр., номер державної реєстрації 0114U002153), «Удосконалення методів діагностики папілярних карцином щитоподібної залози та прогнозування розвитку метастатичного процесу для вибору тактики адекватного його лікування» (2017-2019 рр., номер державної реєстрації 0117U000476).

Особистий внесок здобувача

Представлена до захисту дисертація Зелінської Г.В. є особистою науковою працею здобувача. Автором самостійно проаналізовано значний обсяг наукової літератури, здійснено інформаційно-патентний пошук за темою дисертаційної роботи, що дало змогу обґрунтувати необхідність й актуальність її виконання, сформулювати мету та конкретні завдання. Згідно з розробленою програмою дослідження здобувач самостійно здійснила добір хворих і розподіл їх по групах – пацієнти з папілярними раками без метастазування в поопераційний період, пацієнти з появою поопераційних метастазів (радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих). Автор самостійно проводила нативний аналіз цитологічних препаратів, виконала цитологічні, цитохімічні та імуноцитохімічні дослідження. Дисертант особисто досліджувала субклональну структуру популяції епітелію поопераційних метастазів і папілярних тиреоїдних карцином. Вона самостійно провела імуноцитохімічні та цитологічні дослідження матеріалу пунктів радіоїодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози та досліджувала особливості цитологічного й імуноцитохімічного профілю багаторазово метастазуючих папілярних тиреоїдних карцином. Дисертант самостійно визначала цитологічні зміни та зміни експресії антигенів у процесі розвитку вторинної радіоїодрезистентності метастазів.

Дисертант також особисто виконала статистичну обробку отриманих даних із застосуванням сучасних статистичних програм, проаналізувала й узагальнила отримані результати, оформила дані власних досліджень у вигляді таблиць і рисунків, здійснила підготовку матеріалів для наукових публікацій. Сформулювала висновки, обґрунтувала практичні рекомендації, підготувала до друку наукові праці, матеріали для виступів на науково-практичних конференціях.

Усі наукові узагальнення, положення, результати, висновки та рекомендації, викладені в дисертації, виконано автором особисто. Дисертантом самостійно розроблено та втілено в практичну діяльність метод

передопераційного прогнозування радіюдрезистентності та ефективності радіюдтерапії метастазів папілярного раку щитоподібної залози.

Наукова новизна результатів дослідження

Констатуючи наукову цінність роботи, слід зазначити, що здобувачем вперше проведено комплексні цитологічні, цитохімічні та імуноцитохімічні дослідження епітелію матеріалу тонкоголкових аспіраційних пункційних біопсій папілярного раку щитоподібної залози та його метастазів і виявлено зміни, які відбуваються в процесі розвитку первинної та вторинної радіюдрезистентності та багаторазового метастазування папілярного раку щитоподібної залози, що дозволило вирішити актуальну проблему сучасної ендокринології – розробити новий підхід до передопераційного прогнозування радіюдрезистентності й ефективності радіюдтерапії папілярного раку щитоподібної залози.

Зелінською Г.В. вперше проведено детальне дослідження субклональної структури епітелію поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози на матеріалі пункційних біопсій залежно від їх здатності до накопичення радіюду та продемонстровано фенотипову гетерогенність популяції тиреоцитів радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози, що відрізняє їх від клітин радіюдчутливих метастазів. Автором вперше виявлено клітинні субпопуляції, що відрізняються від інших тиреоцитів за імуноцитохімічними та цитологічними характеристиками. Крім того, показано, що їх наявність у пунктатах папілярного раку щитоподібної залози корелює з частотою розвитку регіонарних метастазів у поопераційний період, що може бути використано для передопераційного прогнозування поведінки папілярного раку щитоподібної залози. Крім того, вперше досліджено частоту наявності мікроядер в епітелії пунктатів метастазів папілярного тиреоїдного раку залежно від їх здатності накопичувати радіюд і його активності. Доведено, що мікроядра трапляються в епітелії пунктатів радіюдрезистентних

метастазів вірогідно частіше, ніж у загальній групі препаратів папілярного тиреоїдного раку, але їх частота не залежить від здатності метастазів до накопичення радіоїоду та його активності.

Автором вперше показано, що радіоїодрезистентність метастазів папілярного раку щитоподібної залози корелює з наявністю цитологічних ознак кістозної дегенерації в метастазах, виявлених у поопераційний період, що може використовуватись як новий метод передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та ефективності радіоїодтерапії.

Дисертантом вперше доведено можливість використання визначення вмісту клітин із тиреоїдною пероксидазою в пунктатах як передопераційного маркера прогнозування радіоїодрезистентності папілярного тиреоїдного раку. Важливим результатом дослідження є виявлення кореляційного зв'язку між вмістом тиреоцитів із тиреоїдною пероксидазою в пунктатах первинного папілярного раку щитоподібної залози та наявністю метастазів в обстежених у поопераційний період, що може бути використано для прогнозування поведінки папілярного тиреоїдного раку в поопераційний період.

Зіставлення вмісту клітин із тиреоїдною пероксидазою в пунктатах первинних папілярних раків та їх регіонарних метастазів, виявлених перед проведенням тиреодектомії, продемонструвало відсутність збігів цих показників у більшості випадків. Автором чітко продемонстровано, що для прогнозування поопераційного метастазування папілярного тиреоїдного раку має сенс враховувати вміст цих клітин у пунктатах первинного папілярного раку або відсутність антигену в пунктатах як папілярного раку, так і його метастазів.

Вперше продемонстровано достовірну різницю між експресією тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну в пунктатах радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих метастазів папілярного тиреоїдного раку. Доведено, що ефективність радіоїодтерапії залежить від експресії тиреоїдної пероксидази в пунктатах метастазів папілярного раку щитоподібної залози, на підставі чого розроблено новий метод передопераційного прогнозування

радіоїодрезистентності його метастазів. Крім того, автор продемонструвала можливість використання для передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності метастазів як імуноцитохімічного, так і цитохімічного методів визначення експресії тиреоїдної пероксидази.

Зелінська Г.В. вперше дослідила кореляцію показників проліферативної активності епітелію пунктів і здатності до накопичення радіоїоду клітинами метастазів папілярного тиреоїдного раку та показала відсутність зв'язку між цими показниками. Доведено, що на відміну від первинних папілярних раків щитоподібної залози, для метастазів, виявлених у поопераційний період, відсутня кореляція між радіоїодрезистентністю та експресією ЦК-17.

Автором вперше досліджено цитологічні та імуноцитохімічні зміни, які відбуваються в процесі повторного метастазування рецидивуючих папілярних раків щитоподібної залози та в динаміці розвитку вторинної радіоїодрезистентності метастазів папілярного тиреоїдного раку. Продемонстровано значущу редукцію експресії тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну, а також появу певних фенотипів і клітинних структур за умов втрати здатності до накопичення радіоїоду. Проведені в рамках виконання дисертаційної роботи дослідження дозволили вперше розробити алгоритм передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності папілярного тиреоїдного раку.

Послідовне та логічне викладення матеріалу свідчить про високий науковий потенціал дослідника, аналітичний підхід до результатів роботи, вміння представити наукову концепцію. Не менш значущою є й практична цінність роботи.

Практичне значення отриманих результатів

Характерною ознакою представленої роботи є тісний зв'язок між теоретичними положеннями та практичним значенням, що визначається цінними практичними рекомендаціями.

Виявлення здобувачем особливостей антигенного профілю клітин радіоїодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози дозволило їй вперше розробити методи передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та ефективності радіоїодтерапії папілярного тиреоїдного раку, які вже впроваджено та продовжують впроваджуватись у роботу спеціалізованих ендокринологічних закладів і відділень. Слід відзначити, що розроблені методи є швидкими, простими у використанні та дозволяють визначити персоніфіковану тактику моніторингу та лікування пацієнтів із папілярним тиреоїдним раком – позбавити хворих із радіоїодрезистентними метастазами зайвих курсів радіоїодтерапії, а для пацієнтів із метастазами, які накопичують радіоїод, застосувати радіоїодтерапію замість хірургічного втручання.

Результати роботи впроваджено у вигляді наукових публікацій у вітчизняних і закордонних журналах, оформлених патентів, інформаційного листа, що підтверджено відповідними актами впровадження, та всебічно обговорено на науково-практичних конференціях і з'їздах. Важливо, що результати проведених досліджень мають практичну цінність і використовуються в практичній роботі ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», Національного Інституту раку.

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

Здобувачем використано комплекс сучасних методів дослідження та достатній обсяг медико-статистичних даних, що забезпечило репрезентативність результатів дослідження для вирішення поставлених наукових завдань.

Аналіз отриманих результатів дослідження проведено з використанням коректних методів статистичної обробки, що визначило обґрунтованість висновків і практичних рекомендацій.

Положення, висновки, рекомендації ґрунтуються на достатній кількості спостережень (520 пацієнтів), використанні сучасних інформативних, адекватних до поставлених завдань методів дослідження та їх математичної обробки.

Дисертаційна робота Г.В. Зелінської ґрунтується на результатах цитологічних, імуноцитохімічних, цитохімічних досліджень, проведених на матеріалі пункційних біопсій 281 первинних папілярних карцином та їх метастазів, виявлених перед операцією, та на препаратах 126 метастазів, що їх було виявлено за результатами сонографічного та сцинтиграфічного обстеження пацієнтів у поопераційний період, тобто після проведення тиреодектомії та радіойодтерапії (94 радіойодрезистентних і 32 радіойодчутливих метастазів).

Аналіз морфологічних особливостей папілярних тиреоїдних карцином, асоційованих з їх радіойодрезистентністю за гістологічними висновками, включив 132 первинні папілярні карциноми, з яких із часом розвинулися метастази, та 155 папілярних карцином без розвитку метастазів у поопераційний період. Також було проведено дослідження матеріалу 129 метастазів, виявлених під час оперативного втручання, та 55 радіойодрезистентних метастазів.

Апробація результатів і повнота викладення основних положень дисертаційної роботи

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 45 наукових праць: 21 стаття (13 – одноосібно, 8 – у співавторстві), з них 18 – у фахових наукових виданнях України, 3 – у наукометричних виданнях інших держав, із 21 статті 3 включено до наукометричної бази SCOPUS, 12 – до інших міжнародних наукометричних баз; 5 праць опубліковано в наукових

збірниках і матеріалах міжнародних та українських наукових конференцій, з'їздів, конгресів, отримано 2 патенти на корисну модель, видано 1 інформаційний лист.

Звертає на себе увагу серйозна апробація представленої роботи, яка містить доповіді на численних науково-практичних конференціях із міжнародною участю. Основні положення та результати дослідження, наведені в дисертації, доповідалися автором та отримали позитивну оцінку на 24 науково-практичних форумах.

Характеристика форми та змісту дисертаційної роботи

Дисертаційна робота має класичну структуру, її побудовано за загальноприйнятою схемою згідно з вимогами, що висуваються до докторських дисертацій. Дисертація складається з анотацій двома мовами, списку публікацій здобувача за темою дисертації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису матеріалу та методів дослідження, 6 розділів детального викладення результатів власних спостережень, аналізу та узагальнення отриманих даних, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і додатків. Дисертаційну роботу подано у вигляді наукового комп'ютерного рукопису. Слід окремо підкреслити, що роботу написано українською мовою гідного академічного рівня. Дисертацію викладено загалом на 370 сторінках машинописного тексту. Обсяг основного матеріалу дисертації складає 272 сторінки друкованого тексту. Роботу ілюстровано 21 таблицею та 80 рисунками. Список використаних джерел містить 331 посилання, з яких 35 кирилицею та 296 латиницею. Матеріал дисертації викладено послідовно. Ілюстративні матеріали відповідають отриманим результатам дослідження.

Назва роботи відповідає її змісту.

За обсягом та формою дисертаційна робота відповідає вимогам і рекомендаціям пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника»,

затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів України від 19.08.2015 р. № 656).

В «Анотаціях» двома мовами (українською та англійською) стисло обґрунтовано вибір теми наукової роботи, означено шляхи вирішення поставлених завдань, наведено основні результати та висновки дисертаційного дослідження.

У «Вступі» дисертації логічно та переконливо обґрунтовано актуальність обраного напрямку досліджень, поставленої мети та конкретних завдань для її досягнення, а також визначено новизну та практичну значущість результатів. У цьому розділі відображено всі необхідні елементи (актуальність теми, мету та завдання дослідження, наукову новизну, практичну цінність, апробацію роботи, впровадження в практику, власний внесок автора), які чітко викладено. Необхідно відзначити, що наукова новизна та практичне значення отриманих результатів роботи містять конкретні підтвердження відмінностей отриманих даних від існуючих уявлень і тверджень щодо досліджуваної проблематики, що існують у доступних літературних джерелах.

Послідовність викладення результатів дослідження

Розділ 1 – «Огляд літератури» – побудовано послідовно та структуровано в 8 підрозділів, в яких проаналізовано дані з літературних наукових джерел, які висвітлюють сучасні погляди та традиційні уявлення про поширеність і патогенез раку щитоподібної залози та його метастазів. Аналіз використаних літературних джерел цілком відповідає обраній дисертантом меті роботи та змісту проведених досліджень. Ретельно розглянуто результати досліджень вітчизняних і зарубіжних науковців, присвячених сучасним проблемам радіойодтерапії диференційованого раку щитоподібної залози, поширеності явища радіюдрезистентності, сучасним уявленням про клініко-біологічні особливості радіюдрезистентних

метастазів, молекулярно-біологічні механізми їх виникнення, відомі методи прогнозування та лікування, відновлення здатності до накопичення радіюду. Проаналізований великий сучасний матеріал із цієї проблеми дозволив дисертантці зробити обґрунтований і логічний висновок про брак відомостей із зазначених питань і необхідність їх поглибленого вивчення. В цілому огляд літератури цілеспрямовано розкриває стан проблеми, вирішенню якої присвячено роботу. Проведений аналіз літератури продемонстрував відсутність наукових результатів цитологічних досліджень радіюдрезистентності папілярного раку щитоподібної залози, що обґрунтувало доцільність і необхідність проведення комплексного цитологічного, дослідження пунктів радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози в порівнянні з відповідними групами папілярних карцином з метою визначення особливостей їх клітин для розробки методів їх передопераційного прогнозування. Проведений автором огляд літературних джерел засвідчує її глибоку обізнаність у ключових питаннях обраної тематики дисертаційної роботи. Кожний підрозділ завершується коротким висновком щодо рівня сучасних світових досягнень та уявлень про описану проблематику, також виділено дискусійні питання, що склали підґрунтя планування даної дисертаційної роботи та логічно й послідовно доводять її актуальність.

У розділі 2 – «Матеріал і методи дослідження», – викладеному на 14 сторінках, належним чином описано дизайн наукової роботи, представлено детальну характеристику пацієнтів і матеріалу, на якому виконувалося дослідження. Використано цитологічний матеріал від 520 пацієнтів чоловічої та жіночої статі віком від 8 до 71 року, які проходили обстеження, хірургічне лікування та радіюдотерапію в клініці ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» в період із 2003 до 2020 року включно. До дослідної групи включено матеріал карцином та їх метастазів від 488 хворих із верифікованим діагнозом папілярного раку щитоподібної залози, яким виконували тиреоїдектомію та поопераційну

радіойодтерапію, а також 12 медулярних карцином і 20 доброякісних новоутворень щитоподібної залози, які використовували як контроль.

Відповідно до мети та основних задач роботи в дослідженні використано цитологічні, цитохімічні, імуноцитохімічні та статистичні методи дослідження. Статистичні методи дослідження грамотно дібрано дисертантом для вирішення поставлених завдань. Вибір методів ґрунтувався на сучасних уявленнях про досліджувану проблему та забезпечення репрезентативності отриманих результатів. До даного розділу зауважень немає.

Викладенню власних даних дисертанта присвячено шість розділів дисертації. Характеризуючи їх, перш за все слід відзначити, що автор отримала дуже цінний у теоретичному та практичному відношенні науковий матеріал. За матеріалами кожного розділу в автора є публікації. Кожен розділ відповідає завданням дослідження.

Розділ 3 – «Морфологічні особливості папілярного раку щитоподібної залози, які корелюють із радіойодрезистентністю» – складається з 2 підрозділів, його викладено на 10 сторінках тексту.

Першим підрозділом цього розділу є «Морфологічні характеристики папілярного раку, асоційовані з радіойодрезистентністю» У цій частині роботи наведено результати аналізу зв'язку частоти таких ознак, як наявність фолікулярних структур, некротичних та оксифільноклітинних змін у різних групах папілярних карцином із наявністю радіойодрезистентних метастазів у поопераційний період, із наявністю радіойодчутливих метастазів, із відсутністю метастазування, а також наявністю метастазів, виявлених під час операції та радіойодрезистентних. Другий підрозділ «Характеристики агресивності папілярних карцином, які корелюють із радіойодрезистентністю» присвячено аналізу частоти в цих групах папілярних карцином ознак агресивності (інвазії в капсулу залози та пухлини, судини, інтра- та екстратиреоїдної інвазії, наявності метастазів і тиреоїдиту на момент оперативного втручання). Показано, що такі ознаки агресивності

папілярних карцином, як інвазія в капсулу залози, пухлини, судини, естратиреодне розповсюдження, наявність метастазів і відсутність тиреоїдиту, корелюють з їх радіюдрезистентністю.

Розділ 4 – «Субклональна структура популяції тиреоцитів пунктів радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози» – складається з 4 підрозділів, його викладено на 58 сторінках тексту. Перший підрозділ – «Особливі клітинні фенотипи в пунктатах радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози» – містить результати детального цитологічного та імуноцитохімічного дослідження субклональної структури популяції тиреоцитів пункційного матеріалу поопераційних радіюдрезистентних і радіюдчутливих метастазів папілярного раку щитоподібної залози та пунктів відповідних первинних папілярних карцином. Автором виявлено різні клітинні фенотипи, які є проявом фенотипової гетерогенності епітелію пунктів радіюдрезистентних метастазів, що відрізняє їх від радіюдчутливих метастазів. Детально представлено цитологічні та імуноцитохімічні характеристики кожного з фенотипів клітин, а також особливих клітинних структур.

У другому підрозділі – «Цитологічні ознаки кістозної дегенерації та радіюдрезистентність метастазів папілярного раку щитоподібної залози» – дисертантом вперше виявлено кореляцію радіюдрезистентності метастазів папілярного раку з наявністю цитологічних ознак кістозної дегенерації в їх пунктатах. Наявність кореляційного зв'язку, а також той факт, що ознаки кістозної дегенерації легко визначаються в матеріалі тонкогілкових аспіраційних пункційних біопсій, дозволили автору обґрунтувати доцільність визначення цитологічних ознак кістозної дегенерації в пунктатах метастазів папілярного тиреоїдного раку, виявлених у поопераційний період, для прогнозування їх радіюдрезистентності й ефективності радіюдтерапії та, відповідно, визначення тактики лікування таких пацієнтів.

У третьому підрозділі – «Фенотипова гетерогенність популяції тиреоцитів у передопераційному прогнозуванні радіоїодрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози» – визначено кореляцію між наявністю певних клітинних фенотипів і частотою метастазування в поопераційний період і доведено можливість використання цього факту для прогнозування тенденцій метастазування папілярного раку в поопераційний період. Виявлення в матеріалі пункційних біопсій папілярного раку щитоподібної залози та їх радіоїодрезистентних метастазів різних фенотипів епітеліальних клітин відкриває нові можливості передопераційної діагностики та є новітнім цитологічним підходом, який дозволяє вивчати кореляцію радіоїодрезистентності та агресивної поведінки тиреоїдного раку не з окремими характеристиками клітин, а з комплексом ознак, які об'єднано в різні клітинні фенотипи.

Четвертий підрозділ – «Мікроядра в епітелії пунктатів поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози залежно від їх радіоїоднакопичувальної здатності» – присвячено дослідженню частоти мікроядер в епітелії пунктатів поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози залежно від їх йод-накопичувальної здатності. Автором доведено незалежність частоти виявлення мікроядер від радіоїодрезистентності метастазів та активності застосовуваного радіоїоду.

Даний розділ роботи проілюстровано великою кількістю інформативних рисунків і таблиць, які систематизують отримані результати та полегшують сприйняття матеріалу.

Отже, дисертантом вперше досліджено субпопуляційну структуру епітелію тиреоцитів метастазів папілярного раку залежно від їх йод-накопичувальної здатності та виявлено цитологічні особливості радіоїодрезистентних метастазів, що склало підґрунтя розробки підходів до передопераційного прогнозування їх розвитку.

Розділ 5 – «Експресія тиреоїдної пероксидази в передопераційному прогнозуванні радіоїодрезистентності папілярного раку щитоподібної

залози» – складається з 3 підрозділів, викладений на 22 сторінках тексту та присвячений дослідженню зв'язку експресії тиреоїдної пероксидази в пунктатах первинних папілярних карцином щитоподібної залози та їх метастазів із частотою поопераційного метастазування та в пунктатах поопераційних метастазів з їх йод-накопичувальною здатністю. Дисертантом виявлено кореляцію між вмістом тиреоїдної пероксидази в пунктатах папілярних карцином і розвитком поопераційного метастазування, отримано дані щодо експресії тиреоїдної пероксидази в пунктатах поопераційних метастазів залежно від їх йод-накопичувальної здатності, проведено порівняльний аналіз результатів дослідження експресії антигену імуноцитохімічним і цитохімічним методами. Важливим результатом роботи є виявлення того факту, що вміст тиреоцитів із тиреоїдною пероксидазою в пунктатах визначає не лише йод-накопичувальну здатність метастазів, а й ефективність подальшої радіойодтерапії. Практична значущість результатів даного розділу полягає в тому, що вони дозволили вперше розробити метод передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності папілярного раку щитоподібної залози. Відсутність тиреоїдної пероксидази в пунктатах метастазів свідчить про нездатність їх клітин до зв'язування радіойоду, неефективність подальшої радіойодтерапії та доцільність їх хірургічного видалення. Якщо понад 53,5% тиреоцитів пунктату метастазу містять тиреоїдину пероксидазу, передбачають здатність метастазу до накопичення радіойоду та високу ефективність радіойодтерапію, якщо їх кількість є меншою (від 30,0% до 50,0%), накопичення радіойоду буде помірним, тобто ефективність радіойотерапії може бути низькою.

Отже, розроблені автором методи передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності є швидкими, простими у використанні та дозволяють визначити персоніфіковану тактику моніторингу та лікування пацієнтів із папілярним тиреоїдним раком – позбавити пацієнтів із радіоїодрезистентними метастазами зайвих курсів радіойодтерапії, а для

пацієнтів із метастазами, які накопичують радіоїод, застосувати радіоїодтерапію замість хірургічного втручання.

Розділ 6 – «Експресія тиреоглобуліну в пунктатах поопераційних метастазів папілярного тиреоїдного раку залежно від їх йоднакопичувальної здатності». Результати розділу дозволили виявити достовірну різницю в експресії тиреоглобуліну в пунктатах радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих метастазів папілярного раку щитоподібної залози. Автором доведено, що імуноцитохімічне визначення відсотку клітин, які містять тиреоглобулін, у пунктатах поопераційних метастазів є ефективним у передопераційному моніторингу радіоїодрезистентності у випадках виявлення в пунктаті менше від 85% тиреоглобулін-позитивних клітин. Дисертантом доведено, що сумісне визначення тиреоглобуліну та тиреоїдної пероксидази в пунктатах поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози збільшує точність прогнозування їх радіоїодрезистентності, надто у випадках виявлення «сумнівного» відсотку клітин із тиреоїдною пероксидазою. Важливим висновком є те, що за відсутності експресії тиреоглобуліну в клітинах поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози не можна виключити нульовий рівень тиреоглобуліну в сироватці крові навіть за наявності метастазів. Тому важливим є ретельний комплексний персоніфікований підхід до таких пацієнтів.

Розділ 7 – «Особливості експресії цитокератину-17 і проліферативної активності тиреоцитів у радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих метастазах щитоподібної залози, виявлених у поопераційний період» – складається з 2 підрозділів і викладений на 13 сторінках тексту. Назва розділу відображає коло наукових завдань, вирішенню яких присвячено даний фрагмент дисертації. Результати проведеного автором наукового дослідження чітко продемонстрували незалежність розвитку радіоїодрезистентності від інтенсивності проліферативних процесів тиреоцитів метастазів папілярних тиреоїдних

карцином і відсутність кореляції між експресією цитокератину-17 і радіюодрезистентністю поопераційних метастазів.

Розділ 8 – «Фенотипові особливості багаторазово метастазуючих і вторинно радіюодрезистентних метастазів папілярних тиреоїдних карцином» – складається з 3 підрозділів і викладений на 36 сторінках тексту. Автором вперше проведено дослідження цитологічних та імуноцитохімічних змін в епітелії пунктатів метастазів папілярного раку у випадках повторного метастазування рецидивуючих папілярних раків і в динаміці розвитку вторинної радіюодрезистентності. Дисертанту вдалося дослідити цитологічні зміни, які відбуваються в ході розвитку вторинно радіюодрезистентних метастазів папілярного тиреоїдного раку. Ця унікальна група метастазів виявилася вдалою моделлю для дослідження цитологічних змін, що супроводжують втрату метастазами здатності до накопичення радіюоду, що забезпечило наукову та практичну вагомість отриманих результатів. Вперше доведено значущу редукцію експресії тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну на стадії втрати вторинно радіюодрезистентним метастазом здатності до накопичення радіюоду порівняно з показником йоднакопичувальної стадії. Також доведено різницю в частоті виявлення таких цитологічних ознак, як наявність особливих клітинних фенотипів, комплексів, кістозної дегенерації, на різних стадіях розвитку вторинно радіюодрезистентних метастазів.

Результати проведеного А.В. Зелінською дослідження дозволили розробити чіткий алгоритм передопераційного прогнозування радіюодрезистентності папілярного раку щитоподібної залози.

У розділі 9 – «Аналіз і обговорення результатів дослідження» – дисертант аналізує отримані власні дані та порівнює їх із результатами відомих із наукової літератури досліджень, присвячених вивченню даної проблеми. Крок за кроком автор описує етапи проведеного дослідження, порівнюючи власні результати з даними сучасної літератури. Наприкінці роботи сформовано дванадцять висновків і практичні рекомендації, які

цілком і стисло відображають суть дисертаційної роботи та логічно впливають із результатів проведеного дослідження.

Недоліки дисертацій щодо змісту й оформлення

Дисертацію написано з використанням загальноприйнятої термінології та дотриманням традиційної структури, добре ілюстровано, і загалом робота характеризує автора як зрілого й досвідченого науковця. Отримані результати дисертації цілком відображено в друкованих працях. У процесі оцінки роботи винила низка питань, які мають дискусійний характер і не впливають на загальний позитивний висновок щодо проведеного наукового дослідження:

1. Чим можна пояснити більшу частоту наявності тиреоїдиту в папілярних карциномах щитоподібної залози без ознак метастазування в поопераційний період порівняно з папілярними карциномами з появою радіоїодрезистентних метастазів у цей період?

2. Чи описано в літературі результати інших досліджень субклональної структури епітелію в новоутвореннях щитоподібної залози або інших органів?

3. Чим можна пояснити кореляцію між наявністю кістозної дегенерації та радіоїодрезистентністю метастазів, і чому частота виявлення кістозної дегенерації в пунктатах опинилася більшою, ніж у гістологічних зрізах?

4. Чим можна пояснити різницю в цитологічних картинах пунктів первинних папілярних карцином та їх метастазів?

5. Яке може бути пояснення відсутності кореляції між частотою виявлення мікроядер і дозою отриманого для лікування раку щитоподібної залози радіоїоду?

Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації

Зауважень до оформлення дисертаційної роботи немає. Автореферат дисертації оформлено згідно з вимогами пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового

співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів України від 19.08.2015 р. № 656), його структура та зміст цілком відповідають структурі та змісту дисертації. Висновки дисертації є логічними, завершеними та відповідними результатам дисертаційного дослідження. Практичні рекомендації є конкретними, чітко сформульованими та придатними для безперешкодного реального впровадження в роботу профільних медичних закладів.

Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота **Зелінської Ганни Володимирівни «Цитологічні аспекти радіюдрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози та алгоритм їх передопераційного прогнозування»** є завершеним науковим дослідженням, виконаним на високому науковому рівні з використанням сучасних та адекватних методів і за своєю актуальністю, новизною та практичним значенням відповідає основним вимогам пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів України від 19.08.2015 р. № 656), а її автор заслуговує на присудження їй наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.01.14 – ендокринологія.

Офіційний опонент
завідувач кафедри
фундаментальної медицини
ННЦ «Інститут біології і медицини»
Київського університету ім. Т.Г. Шевченка,
старший науковий співробітник,
доктор медичних наук

Хонерія В.Г.

Місце д.м.н. В.Г. Хонерія
Засідник професора



Хонерія В.Г.
01.12.2020

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу Зелінської Ганни Володимирівни «Цитологічні аспекти радіоїодрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози та алгоритм їх передопераційного прогнозування», подану на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю - 14.01.14 – ендокринологія

Актуальність теми дисертації, її зв'язок з науковими програмами

На сьогоднішній день актуальними у діагностиці та радіоїодтерапії диференційованого тиреоїдного раку являються проблеми виявлення радіоїодрезистентних метастазів, клітини яких не здатні до накопичення радіоїоду. Радіоїодрезистентність (або радіоїодрефрактерність) тиреоїдних карцином корелює зі зниженням виживання та ставить пацієнтів на рак щитоподібної залози в загальний ряд з хворими на рак інших локалізацій, для яких не існує такого специфічного лікування, як радіоїодтерапія, а інші методи лікування (хіміотерапія, променева терапія) не є ефективними. У таких пацієнтів терапевтичні можливості є обмеженими, вони пов'язані зі значною токсичністю терапії та погіршенням якості життя. Розвиток радіоїодрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози робить неможливим їхню діагностику та лікування за допомогою радіоїоду. Такі пацієнти можуть бути носіями неконтрольовано розповсюджених метастазів. Тому важливе своєчасне виявлення розвитку радіоїодрезистентних метастазів папілярних карцином щитоподібної залози, яке збільшить шанси на виживання хворих.

Вирішення питання передбачення здатності метастазів тиреоїдних папілярних карцином до накопичення радіоїоду може ґрунтуватись на визначенні цитологічних особливостей тиреоцитів в пунктатах радіоїодрезистентних метастазів. Існуючі дослідження радіоїодрефрактерних тиреоїдних метастазів на теперішній час проводяться лише на гістологічному матеріалі, дослідження на матеріалі їх пункційних біопсій не проводяться, відповідно, відсутні дані щодо їх цитологічних характеристик. Слід відзначити, що саме такі дослідження можуть бути основою для розробки методів найбільш раннього, доопераційного прогнозування радіоїодрезистентних тиреоїдних метастазів.

У зв'язку з цим тема представленої дисертаційної роботи є надзвичайно актуальною.

Дисертаційну роботу виконано в Державній установі «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка» НАМН України згідно з планом науково-дослідних робіт. Вона є фрагментом науково-

дослідних робіт: «Діагностика і клінічна оцінка лікування регіонарних та віддалених метастазів диференційованого раку щитоподібної залози у хворих, які були дітьми або підлітками на момент аварії на ЧАЕС», (2014-2016 р.р., номер державної реєстрації № 0114U002153), «Удосконалення методів діагностики папілярних карцином щитоподібної залози та прогнозування розвитку метастатичного процесу для вибору тактики адекватного його лікування» (2017-2019 р.р., номер державної реєстрації № 0117U000476).

Наукова новизна результатів дослідження

Результати представленої роботи мають високу наукову та теоретичну цінність.

В дисертаційній роботі розроблено новий підхід до передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та ефективності радіоїодтерапії папілярного раку щитоподібної залози на основі цитологічних, цитохімічних та імуноцитохімічних досліджень епітелію матеріалу тонкогольчастих аспіраційних пункційних біопсій папілярного раку щитоподібної залози і його метастазів.

Вперше отримані нові дані про зміни, які відбуваються в процесі розвитку первинної та вторинної радіоїодрезистентності та багаторазового метастазування папілярного раку щитоподібної залози.

Докторантом, в результаті проведених досліджень субклональної структури епітелію матеріалу пункційних біопсій поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози залежно від їх здатності до накопичення радіоїоду було виявлено фенотипову гетерогенність популяції тиреоцитів радіоїодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози, що відрізняє їх від радіоїодчутливих метастазів.

Вперше були виявлені клітинні субпопуляції, які відрізняються від інших тиреоцитів за імуноцитохімічними і цитологічними характеристиками, показано, що їх наявність у пунктатах папілярного раку корелює з частотою появи регіонарних метастазів у поопераційний період. Отримані результати можуть бути використані для передопераційного прогнозування поведінки папілярного раку щитоподібної залози.

Крім того, вперше досліджено частоту мікроядер в епітелії пунктатів метастазів папілярного тиреоїдного раку залежно від їх здатності накопичувати радіоїод.

Доказано, що мікроядра виявляються в епітелії пунктатів радіоїодрезистентних метастазів вірогідно частіше, ніж у загальній групі папілярного тиреоїдного раку, але їх частота не залежить від здатності метастазів до накопичення радіоїоду та його активності.

Розроблено передопераційний маркер радіоїодрезистентності на основі визначення кореляції радіоїодрезистентності з наявністю цитологічних ознак кістозної дегенерації в поопераційних метастазах.

Вперше доказана можливість використання вмісту клітин з тиреоїдною пероксидазою в пунктатах в якості передопераційного маркеру прогнозування радіоїодрезистентності папілярного тиреоїдного раку.

Важливим результатом дослідження є виявлений кореляційний зв'язок між вмістом тиреоцитів із тиреоїдною пероксидазою в пунктатах первинного папілярного раку щитоподібної залози і наявністю метастазів в обстежених у поопераційний період, що може бути використано для прогнозування поопераційного перебігу папілярного тиреоїдного раку.

Вперше виявлено достовірну різницю між експресією тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну у пунктатах радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих метастазів папілярного тиреоїдного раку. Показано, що ефективність радіоїодтерапії залежить від експресії тиреоїдної пероксидази в пунктатах метастазів папілярного раку щитоподібної залози.

Розроблено новий метод передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози.

Показана можливість використання для передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності метастазів як імуноцитохімічного, так і цитохімічного методів визначення експресії тиреоїдної пероксидази.

Вперше досліджено кореляцію показників проліферативної активності епітелію пунктатів і здатності до накопичення радіоїоду клітинами метастазів папілярного тиреоїдного раку та показана відсутність зв'язку між показниками. Важливо, що на відміну від первинних папілярних раків щитоподібної залози, для метастазів, виявлених у поопераційний період, відсутня кореляція між радіоїодрезистентністю та експресією ЦК-17 та цей антиген не може бути використаний для прогнозування радіоїодрезистентності поопераційних метастазів на відміну від первинних папілярних карцином щитоподібної залози.

Вперше проведено дослідження цитологічних та імуноцитохімічних змін, які відбуваються в процесі повторного метастазування рецидивуючих папілярних раків щитоподібної залози та в динаміці розвитку вторинної радіоїодрезистентності метастазів папілярного тиреоїдного раку. Також вперше виявлено значущу редукцію експресії тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну, а також появу певних фенотипів і клітинних структур за умов втрати здатності до накопичення радіоїоду.

Вперше розроблено алгоритм передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності папілярного тиреоїдного раку.

Практичне значення отриманих результатів

Розроблено методи передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та ефективності радіоїодтерапії папілярного тиреоїдного раку, які можна впровадити в роботу спеціалізованих ендокринологічних закладів і відділень. Запропоновано швидкі, прості у використанні методи, які дозволяють визначити персоніфіковану тактику моніторингу та лікування пацієнтів із папілярним тиреоїдним раком. Ці методи передопераційного прогнозування радіоїорезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози дозволяють позбавити пацієнтів із радіоїодрезистентними метастазами зайвих курсів радіоїодтерапії, а для пацієнтів із метастазами, які накопичують радіоїод, застосувати радіоїодтерапію замість операції.

Результати досліджень можуть ефективно використовуватися в практичній роботі спеціалізованих відділень ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», Національного Інституту раку.

Слід відзначити, також, отримання автором 2 патентів України на корисну модель, один інформаційний лист, акти впровадження наукових та практичних результатів в діяльність закладів практичної медицини.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертації

Інформативність і достовірність отриманих результатів обумовлені виконанням дослідження на достатньому об'ємі матеріалу, а саме - на матеріалі 520 пацієнтів, з них 488 з верифікованим діагнозом – папілярний рак щитоподібної залози, 12 – з медулярними карциномами, 20 – з доброякісними новоутвореннями. Авторка використовувала матеріал тонкогілкових аспіраційних пункційних біопсій папілярних карцином щитоподібної залози та їх метастазів, інформативність якого було проконтрольовано під час проведення пункцій на нативних препаратах. Крім того важливо, що імуноцитохімічні дослідження були проведені на тих самих препаратах, що й цитологічні дослідження завдяки використанню методу відновлення активності антигенних детермінант. Це виключало з підрахунків імунопозитивних клітин макрофаги або інші клітини не епітеліальної природи та виключало отримання хибно-позитивних результатів.

Здобувачкою використано комплекс сучасних інформативних методів дослідження (цитологічні, імуноцитохімічні, цитохімічні, статистичні) і достатній об'єм медико-статистичних даних, які забезпечили репрезентативність дослідження для вирішення поставлених наукових

завдань.

Цитологічні, імуноцитохімічні, цитохімічні дослідження проведені на матеріалі пункційних біопсій 281 первинних папілярних карцином та їх метастазів, виявлених перед операцією, та на матеріалі 126 метастазів, які виявили за результатами сонографічного та сцинтиграфічного обстеження пацієнтів у поопераційний період, тобто після проведення тиреоїдектомії та радіоїодтерапії (94 РЙРМ і 32 метастазів, які накопичували радіоїод). Аналіз морфологічних особливостей папілярних тиреоїдних карцином, асоційованих з їх радіоїодрезистентністю за гістологічними висновками щодо первинних ПРЦЗ включив 132 папілярні карциноми, у яких із часом виникли РЙРМ або РЙЧМ, і 155 папілярних карцином без розвитку метастазів у поопераційний період. Крім того, дослідження були проведені на матеріалі 129 метастазів, виявлених під час оперативного втручання та 55 радіоїодрезистентних метастазах.

Апробація результатів та повнота викладу основних положень дисертаційної роботи

За темою дисертації опубліковано 45 наукових праць: 21 стаття (13 – одноосібно, 8 – у співавторстві), з них 18 – у фахових наукових виданнях України, 3 – у наукометричних виданнях інших держав, із 21 статті 3 включено до наукометричної бази SCOPUS, 12 – до інших міжнародних наукометричних баз; 5 праць опубліковано в наукових збірниках і матеріалах міжнародних та українських наукових конференцій, з'їздів, конгресів. Отримано 2 патенти України на корисну модель та інформаційний лист.

Результати роботи доповідалися автором та отримали позитивну оцінку у численних науково-практичних конференціях, в тому числі з міжнародною участю.

Характеристика форми та змісту дисертаційної роботи

Представлена робота має традиційну структуру, у відповідності із вимогами до оформлення докторських дисертацій. Вона складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 6-ти розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, переліку посилань та додатків. Дисертаційна робота подана у вигляді наукового комп'ютерного рукопису, написана українською мовою, загалом на 370 сторінках машинописного тексту. Обсяг основного тексту дисертації складає 272 сторінки друкованого тексту. Роботу ілюстровано 21 таблицею та 80 рисунками. Список використаних джерел містить 331 посилання. Матеріали дисертації викладено послідовно. Ілюстративні матеріали відповідають отриманим результатам дослідження. Назва роботи відповідає її змісту.

За обсягом та формою дисертаційна робота відповідає вимогам і рекомендаціям ДАК МОН України.

В «**Анотації**» двома мовами (українською та англійською) стисло обґрунтовано вибір теми наукової роботи, означені шляхи вирішення поставлених завдань, наведені основні результати та висновки дисертаційного дослідження.

У «**Вступі**» здобувач висвітлює актуальність обраної теми дисертаційної роботи. Вказано зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами НДР ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», чітко сформульовано мету, завдання, об'єкт, предмет і методи дослідження, наукову новизну та практичне значення роботи, а також особистий внесок здобувача.

Перший розділ дисертації “Огляд літератури” має 8 підрозділів, які підпорядковані основному напрямку роботи. Цей розділ дає цілісну картину сучасних уявлень про радіюдрезистентні метастази як проблему в діагностиці і лікуванні раку щитоподібної залози, клініко-біологічні особливості радіюдрезистентних метастазів, молекулярно-біологічні, генетичні, фізичні механізми їх виникнення. Показано відомі методи прогнозування радіюдрезистентності тиреоїдного раку, висвітлено відомі сучасні способи лікування та відновлення здатності до накопичення радіюду .

Слід відзначити підрозділи, які стосуються сучасних знань щодо участі цитоплазматичних факторів в процесі накопичення радіюду, що висвітлює їх потенційну перспективність в якості можливого використання для прогнозування радіюдрезистентності метастазів тиреоїдного раку. Також, важливими є наведені приклади передопераційного прогнозування поведінки та вибору адекватної терапії пухлин інших локалізацій. В якості відомих прогностичних чинників радіюдрезистентності наводиться виявлення антигену натрій-йод-симпортеру (NIS) на гістологічних препаратах папілярних карцином. Але його застосовують для дослідження поопераційного гістологічного матеріалу, коли вплинути на хід оперативного втручання вже неможливо. Крім того, існують суперечливі дані щодо використання в якості передопераційного фактора прогнозування радіюдрезистентності визначення BRAF-мутацій в матеріалі пункційних біопсій. Наразі методи молекулярної біології не вирішують проблеми прогнозування радіюдрезистентності раку щитоподібної залози, вимагають вартісного обладнання й навряд чи можуть бути використаними в практичній поточній діяльності українських клінік.

В той же час, проведений аналіз літератури виявив відсутність наукових даних щодо цитологічних досліджень радіюдрезистентності папілярного раку щитоподібної залози та був підґрунтям до проведення відповідного комплексного дослідження пунктів радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози у порівнянні з відповідними групами папілярних карцином з метою визначення особливостей їх клітин, на підставі чого можливо створення методів їх передопераційного прогнозування. Кожний підрозділ завершується коротким висновком, що полегшує сприйняття матеріалу.

Виходячи з вищезначеного, обрана дисертантом тема досліджень є безумовно своєчасною та актуальною.

Другий розділ «Матеріали та методи дослідження», викладений на 14 сторінках, належним чином наведено дизайн наукової роботи, представлена детальна характеристика обстежених, детально описані основні методи дослідження. Обґрунтованість та достовірність наукових положень підтверджена великим обсягом проведеного обстеження – на матеріалі 520 пацієнтів чоловічої та жіночої статі віком від 8 до 71 років, які проходили обстеження, хірургічне лікування та радіюдтерапію у клініці ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» в період із 2003 до 2020 року. До дослідної групи включено матеріал карцином та їх метастазів від 488 хворих із верифікованим діагнозом папілярний рак щитоподібної залози, яким виконували тиреоїдектомію та поопераційну радіюдтерапію, а також 12 медулярних карцином і 20 доброякісних новоутворень щитоподібної залози, які використовували як контрольні групи.

При виконанні дисертації використані цитологічні, цитохімічні, імуноцитохімічні та статистичні методи дослідження. Використані методи сучасні і відповідають поставленим завданням роботи. Принципи проведених досліджень наведено в підрозділі “Методи дослідження”. Статистичний аналіз результатів проведено із використанням прикладних програм Statistica 10.0 та Microsoft Excel. Використовувались такі методи статистичного аналізу, як критерій Мана-Уїтні, критерії Вілкоксона та знаків, критерій χ^2 , метод кореляційного аналізу. Результати досліджень наведено у вигляді таблиць та діаграм розмаху. Дуже важливо, що для аналізу кількісних ознак в одних і тих самих пацієнтів використовувався критерій Вілкоксона, а для аналізу якісних змін – критерій знаків. Дуже важливим є те, що аналіз проводився з урахуванням поправки Йетса. Використані методи статистичного аналізу повністю підтверджують ступінь

обґрунтованості наукових та практичних положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Викладенню власних даних дисертанта присвячено шість глав дисертації. За матеріалами кожного розділу у автора є публікації. Кожний окремих розділ відповідає завданням дослідження.

Третій розділ «Морфологічні особливості папілярного раку щитоподібної залози, які корелюють із радіюдрезистентністю» складається з 2-х підрозділів, викладено на 10 сторінках тексту.

Підрозділ «Морфологічні характеристики папілярного раку, асоційовані з радіюдрезистентністю» присвячений аналізу частоти таких гістологічних ознак, як наявність фолікулярних структур, некротичних змін, та оксифільноклітинних змін в різних групах первинних папілярних карцином - з наявністю радіюдрезистентних метастазів в поопераційному періоді, з наявністю радіюдчутливих метастазів, та в групі папілярних карцином без ознак метастазування, а також в групах метастазів (виявлених на момент операції та радіюдрезистентних). У підрозділі не визначено достовірної різниці в частоті виявлення в гістологічному матеріалі таких ознак, як некротичні та оксифільноклітинні зміни, а також наявності фолікулярних структур, між досліджуваними групами папілярних карцином. Було доведено, що ці ознаки неможливо розглядати як асоційовані з розвитком радіюдрезистентності папілярного тиреоїдного раку. Водночас фолікулярні структури траплялися вірогідно рідше, а оксифільні зміни – частіше в групі радіюдрезистентних метастазів порівняно з показниками метастазів цих пацієнтів, виявлених під час операції.

Другий підрозділ «Характеристики агресивності папілярних карцином, які корелюють із радіюдрезистентністю» присвячений аналізу частоти виявлення в цих групах папілярних карцином таких ознак агресивності, як інвазії в капсулу залози та пухлини, судини, інтра- та екстратиреоїдну інвазію, наявність метастазів та тиреоїдиту на момент оперативного втручання. Дисертанткою показано, що такі ознаки агресивності папілярних карцином, як інвазія в капсулу залози, пухлини, судини, екстратиреоїдне розповсюдження, наявність метастазів та відсутність тиреоїдиту корелюють з їх радіюдрезистентністю.

Четвертий розділ «Субклональна структура популяції тиреоцитів пунктатів радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози» складається з 4-х підрозділів, його викладено на 58 сторінках тексту. Підрозділ «Особливі клітинні фенотипи в пунктатах радіюдрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози» присвячений вперше проведеному комплексному дослідженню субклональної

структури популяції тиреоцитів пункційного матеріалу радіоїодрезистентних та радіоїодчутливих метастазів папілярного раку щитоподібної залози та пунктатів відповідних первинних папілярних карцином. За допомогою цитологічних та імуноцитохімічних методик вперше були виявлені особливі клітинні фенотипи, які є проявом фенотипової гетерогенності епітелію пунктатів радіоїодрезистентних метастазів, що відрізняє їх від радіоїодчутливих метастазів. Крім того, в даному підрозділі описані клітинні структури, які зустрічаються лише в пунктатах радіоїодрезистентних метастазів та є аналогією структур, що описані в гістологічних зрізах такого агресивного варіанта папілярних карцином щитоподібної залози, як дифузно-склерозуючий. Важливою частиною дослідження є порівняння цитологічних характеристик радіоїодрезистентних та радіоїодчутливих метастазів з показниками відповідних папілярних карцином. Дисертанткою було показано, що саме в випадках появи радіоїодрезистентних метастазів, їх цитологічна картина відрізняється від первинних папілярних карцином на відміну від радіоїодчутливих метастазів, цитограми яких подібні первинним пухлинам.

Другий підрозділ «Цитологічні ознаки кістозної дегенерації та радіоїодрезистентність метастазів папілярного раку щитоподібної залози» присвячений дослідженню кореляції явища радіоїодрезистентності метастазів папілярного раку з наявністю цитологічних ознак кістозної дегенерації в їх пунктатах. Авторкою встановлений кореляційний зв'язок між цими факторами та запропоновано визначення цитологічних ознак кістозної дегенерації в пунктатах поопераційних метастазів папілярного тиреоїдного раку в якості маркеру передопераційного прогнозування їх радіоїодрезистентності та, відповідно, визначення тактики їх лікування, що стало основою розробки нового методу передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності та ефективності радіоїодтерапії. Даний метод дозволяє виявляти ознаку кістозної дегенерації під час рутинного цитологічного дослідження, не потребує додаткових інвазійних втручань. Слід відмітити, що до теперішнього часу не було досліджено кореляції ознаки кістозної дегенерації та радіоїодрезистентності метастазів.

Третій підрозділ «Фенотипова гетерогенність популяції тиреоцитів у передопераційному прогнозуванні радіоїодрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози» присвячений дослідженню явища фенотипової гетерогенності пунктатів папілярного раку щитоподібної залози та його метастазів. Важливим результатом досліджень є доказана кореляція між наявністю певних клітинних фенотипів в пунктатах первинних папілярних карцином та частотою метастазування в поопераційний період,

що може бути використано для прогнозування тенденцій метастазування папілярного раку в поопераційний період. Дисертанткою розроблено новітній цитологічний підхід до дослідження цитологічних препаратів, який заключається у визначенні окремих клітинних фенотипів, що характеризуються комплексом цитологічних та імуноцитохімічних особливостей, що розширює можливості передопераційної діагностики та дозволяє досліджувати не окремі ознаки клітин, а їх комплекс, який об'єднує клітинні фенотипи.

Четвертий підрозділ «Мікроядра в епітелії пунктатів поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози залежно від їх радіоїод-накопичувальної здатності» присвячений дослідженню частоти мікроядер в епітелії пунктатів поопераційних метастазів папілярного раку щитоподібної залози в залежності від їх йод накопичувальної здатності. Авторкою доказано незалежність частоти мікроядер від радіоїодрезистентності метастазів та активності отриманого радіоїоду. Подібних досліджень досі проведено не було. При цьому, авторкою була показана достовірна різниця між частотою мікроядер в пунктатах загальної групи папілярних карцином та радіоїодрезистентних метастазів, що може бути доказом більшої генетичної нестабільності радіоїод-негативних метастазів, на тлі якої можуть з'являтися клітинні субклони, здатні до формування метастазів, в тому числі радіоїодрезистентних.

Слід відмітити, що даний розділ роботи проілюстрований великою кількістю якісних рисунків та таблиць, які систематизують отримані результати та додатково полегшують сприйняття матеріалу.

Наукове та практичне значення даного підрозділу дисертації заключається в тому, що отримані дані дозволили вперше дослідити субпопуляційну структуру епітелію тиреоцитів метастазів папілярного раку залежно від їх йод накопичувальної здатності та виявити цитологічні особливості радіоїодрезистентних метастазів, що стало основою їх передопераційного прогнозування.

П'ятий розділ «Експресія тиреоїдної пероксидази в передопераційному прогнозуванні радіоїодрезистентності папілярного раку щитоподібної залози» складається з 3-х підрозділів, викладено на 22 сторінках тексту, він присвячений дослідженню експресії тиреоїдної пероксидази в пунктатах первинних папілярних карцином щитоподібної залози в залежності від частоти поопераційного метастазування та в пунктатах поопераційних метастазів в залежності від їх йод накопичувальної здатності. В першому підрозділі автором визначена наявність кореляції між вмістом тиреоцитів з тиреоїдною пероксидазою в пунктатах первинних

папілярних карцином та частотою метастазування в поопераційному періоді. Також доказано, що визначення експресії тиреоїдної пероксидази в матеріалі пункційних біопсій папілярного раку щитоподібної залози та їх метастазів, виявлених перед проведенням тиреоїдектомії, можна використовувати для прогнозування тенденцій його метастазування у поопераційний період і, відповідно, визначати тактику моніторингу й лікування пацієнтів із папілярним раком щитоподібної залози.

Другий підрозділ присвячений дослідженню експресії тиреоїдної пероксидази в пунктатах радіоїодрезистентних та радіоїодчутливих метастазів. В результаті проведених досліджень доказана вірогідна різниця між цими групами метастазів за експресією антигену, на основі чого розроблений та запатентований метод передопераційного прогнозування радіоїорезистентності папілярного раку щитоподібної залози. Відсутність тиреоїдної пероксидази в пунктатах метастазів свідчить про нездатність їх клітин до зв'язування радіоїоду, неефективність подальшої радіоїодтерапії і доцільність їх хірургічного видалення. У випадках, якщо понад 53,5% тиреоцитів пунктату метастазу містять тиреоїдну пероксидазу, передбачають здатність метастазу до накопичення радіоїоду та високу ефективність радіоїодтерапії, якщо їх кількість є меншою (від 30,0 до 50,0%), накопичення радіоїоду є помірним, але ефективність радіоїотерапії може бути низькою.

У третьому підрозділі висвітлено результати співставлення досліджень експресії антигену імуноцитохімічним та цитохімічним методами, та можливість використання обох методів для передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності. Слід відмітити, що запропоновані методи передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності є швидкими, простими у використанні та дозволяють визначити персоніфіковану тактику моніторингу та лікування пацієнтів із папілярним тиреоїдним раком. Це дозволяє позбавити пацієнтів із радіоїодрезистентними метастазами зайвих курсів радіоїодтерапії, а для пацієнтів із метастазами, які накопичують радіоїод, застосувати радіоїодтерапію замість операції. З огляду на можливість серйозних побічних ефектів від використання радіоїоду (розвиток вторинних онкологічних захворювань, лейкоцитопенії та тромбоцитопенії, сіаладенітів, набряку тканин, фіброзу легень тощо) та вартість його використання важливим є уникання зайвих курсів радіоїодтерапії.

Важливо, що розроблені маркери кістозної дегенерації та експресії тиреоїдної пероксидази в метастазах, виявлених у поопераційний період, виступають як незалежні цитологічні прогностичні чинники

радіоїодрезистентності папілярного раку щитоподібної залози, що підтверджується результатами відповідного кореляційного аналізу.

Шостий розділ. «Експресія тиреоглобуліну в пунктатах поопераційних метастазів папілярного тиреоїдного раку залежно від їх йоднакопичувальної здатності». У цьому розділі виявлена достовірна різниця в експресії тиреоглобуліну в пунктатах радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих метастазах папілярного раку щитоподібної залози. При цьому було показано, що імуноцитохімічне визначення відсотку клітин, які містять тиреоглобулін, у пунктатах поопераційних метастазів є ефективним в передопераційному моніторингу радіоїодрезистентності у випадках виявлення відсотку тиреоглобулін-позитивних клітин у пунктатах нижче від 85 %. Крім того, було показано, що сумісне визначення тиреоглобуліну та тиреоїдної пероксидази в пунктатах поопераційних метастазів папілярного раку збільшує точність прогнозування їх радіоїодрезистентності.

Важливим є виявлення випадків відсутності або присутності лише поодиноких клітин, які експресують тиреоглобулін, що мало місце в 13,0% пунктів радіоїодрезистентних метастазів. Попри наявність регіонарних метастазів папілярного тиреоїдного раку у декількох пацієнтів не спостерігали підвищення рівня сироваткового тиреоглобуліну, який вважається надійним маркером розвитку рецидивів папілярного тиреоїдного раку у поопераційний період. Тому, важливим є ретельний комплексний персоналізований підхід до пацієнтів з відсутністю тиреоїдного тиреоглобуліну в клітинах метастазу.

Сьомий розділ. «Особливості експресії цитокератину-17 та проліферативної активності тиреоцитів у радіоїодрезистентних і радіоїодчутливих метастазах, виявлених у поопераційний період щитоподібної залози» складається з 2-х підрозділів та викладено на 13 сторінках тексту. Результати наукових досліджень доводять незалежність розвитку радіоїодрезистентності від інтенсивності проліферативних процесів тиреоцитів метастазів папілярних тиреоїдних карцином та відсутність кореляції між експресією цитокератину-17 та радіоїодрезистентністю поопераційних метастазів. Доречно зауважити, що саме в цих випадках, коли відносний вміст клітин з цитокератином-17 у пунктатах радіоїодрезистентних метастазів був максимальним і складав 22,0–37,0%, папілярні раки поводити себе досить агресивно, рецидиви виникали дуже швидко, а кількість метастазів була найбільшою. Показано, що за умов використання цитокератину-17 як передопераційного цитологічного чинника радіоїодрезистентності на підставі визначення його експресії в пунктатах первинних папілярних карцином відбувається довгострокове прогнозування розвитку радіоїодрезистентності, одним з очікуваних джерел яких можуть бути клітини, які містять цей антиген. Водночас, ці клітини, у зв'язку з невеликою їх кількістю в складі популяції епітелію поопераційних метастазів, не обумовлюють статус конкретних метастазів відносно радіоїодрезистентності.

Восьмий розділ. «Фенотипові особливості багаторазово метастазуючих та вторинно радіоїодрефрактерних метастазів папілярних тиреоїдних карцином» складається з 3-х підрозділів та викладено на 36 сторінках тексту. Перший підрозділ присвячений виявленню цитологічних та імуноцитохімічних змін в епітелії пунктатів метастазів при повторному метастазуванні рецидивуючих папілярних карцином. Хоча в більшості випадків після тиреоїдектомії та радіоїодтерапії прогноз для папілярних карцином щитоподібної залози є сприятливим, привертають увагу випадки його багаторазового метастазування з появою радіоїодрезистентних метастазів. Авторкою було доказано тенденцію до втрати ознак диференціації (достовірне зниження експресії тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну, поява фенотипової гетерогенності популяції) тиреоцитами повторних метастазів рецидивуючих папілярних карцином щитоподібної залози. Отримані дані не протирічать результатам інших дослідників в порівняльних дослідженнях гістологічного матеріалу первинних карцином та їх радіоїодрезистентних метастазів. Було показано, що у 70,0% досліджені папілярні карциноми прогресували в більш агресивний гістотип, який було представлено в метастазах.

Другий підрозділ присвячений вперше проведеному дослідженню цитологічних та імуноцитохімічних змін в епітелії пунктатів метастазів папілярного раку в динаміці розвитку вторинної радіоїодрезистентності. Авторці вдалося виділити унікальну групу вторинно радіоїодрезистентних метастазів папілярного раку щитоподібної залози, яка є адекватною моделлю для вивчення цитологічних змін клітин, що відбуваються в динаміці втрати здатності метастазу до накопичення радіоїоду. В результаті проведених досліджень дисертанткою була доказана значуща редукція експресії тиреоїдної пероксидази та тиреоглобуліну на стадії втрати вторинно радіоїодрезистентним метастазом здатності до накопичення радіоїоду порівняно з показником йоднакопичувальної стадії. Також доведено різницю в частоті виявлення деяких цитологічних ознак на різних стадіях розвитку вторинно радіоїодрезистентних метастазів.

Було представлено алгоритм передопераційного прогнозування радіоїодрезистентності папілярного раку щитоподібної залози.

Дев'ятий розділ «Аналіз і обговорення результатів дослідження» В розділі дано належну оцінку результатам дослідження. Був проведений ґрунтовний аналіз методів дослідження та отриманих результатів, котрий співставлений з наявними літературними даними. Дисертанткою показано глибоке розуміння досліджуваної проблеми та широкий спектр знань, щодо сучасних можливостей її вирішення. Результати роботи та отримані висновки дозволили продемонструвати здатність авторки до глибокого аналітичного мислення та відкрити нові перспективні напрямки розвитку досліджуваної проблеми.

Висновки є логічним завершенням дисертаційної роботи, цілком відповідають меті і поставленим завданням.

Практичні рекомендації є конкретними, науково обґрунтованими, відповідають основному змісту роботи.

Публікації Зелінської Г.В. відображають суть роботи і представляють результати дослідження згідно поставлених завдань.

Недоліки дисертації та зауваження щодо змісту і оформлення

Принципових зауважень до змісту та оформлення дисертаційної роботи не має. Дисертація написана з використанням загально-прийнятої термінології і дотриманням традиційної структури, добре ілюстрована і залишає добре враження. Після детального ознайомлення з дисертаційною роботою виникло ряд питань, які носять дискусійний характер і не впливають на загальний позитивний висновок проведеного наукового дослідження:

Запитання до дисертанта:

1. Якими методами проводилася перевірка вибірок на нормальність розподілу ознак?
2. Питання по таблиці 3.3 - Чим можна пояснити таку низьку частоту інвазії у власну капсулу радіорезистентних папілярних раків ЩЗ, тоді як їх екстратиреоїдне поширення дуже високе?
3. Чи можна розцінювати високу частоту супутнього аутоімунного тиреоїдиту при радіочутливих тиреоїдних раках як фактор, що перешкоджає метастазуванню?
4. Головним активатором процесів органіфікації йоду є тиреотропний гормон гіпофіза. Чи враховувався стан тиреоїдної супресії або гіпотиреозу при дослідженні експресії ТПО?
5. Чи не вважаєте Ви ціннішим для прогнозування радіюодчутливості дослідження NIS (натрій-йод сімпортера), який безпосередньо відповідає за надходження йоду в тиреоцит, і практично з такою ж частотою не експресується при високодиференційованих раках щитоподібної залози?

Ідентичність змісту автореферату і основних положень дисертації.

Суттєвих зауважень щодо оформлення дисертаційної роботи немає. Автореферат дисертації оформлений згідно вимог ДАК України та повністю відповідає змісту роботи. Структура та зміст автореферату ідентичні тим, що наведені в дисертації. Висновки дисертації логічні, завершені і відповідають результатам дисертаційного дослідження. Практичні рекомендації мають практичне та наукове значення.

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Зелінської Ганни Володимирівни «Цитологічні аспекти радіюдрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози та алгоритм їх передопераційного прогнозування» є закінченим науковим дослідженням, виконана на високому науковому рівні з використанням сучасних та адекватних методів дослідження і за своєю актуальністю, новизною та практичним значенням відповідає основним вимогам пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 (зі змінами, внесеними згідно Постановою КМ № 656 від 19.08.2015 р.), а її авторка заслуговує на присудження їй наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.01.14 – ендокринологія.

Офіційний опонент

Завідувачка лабораторії фармакології

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології

ім. В.Я. Данилевського» НАМНУ,

старший науковий співробітник,

доктор біологічних наук



Малова Наталія Георгіївна

