

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора кафедры нервных болезней, нейрохирургии и медицинской генетики УГМУ Шершевера А.С. о диссертации АУЭЗОВОЙ РАУШАН ЖУМАНАЗАРОВНЫ «ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РЯДА КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА» представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни

Глубокоуважаемые председатели, члены диссертационного совета, гости, позвольте выразить признательность за представленную возможность выступить в столь уважаемом диссертационном совете, а также в одной из самых знаменитых ведущих неврологических и нейрохирургических клиник нашей страны у которой одним из направления лечение эпилепсии.

Эпилепсия во все времена была наиболее впечатляющим из всех психических заболеваний. Сам вид припадков, его необъяснимое внезапное начало производят неизгладимое впечатление и даже вызывают ужас. Первое упоминание об эпилепсии содержится в Библии (чудесное исцеление Иисусом больного эпилепсией).

Диссертация посвящена актуальной проблеме лечению глиом головного мозга т.к. несмотря на успехи в изучении патогенетических механизмов развития, улучшение диагностики и оптимизации проводимой терапии, а также прогнозирования течения заболевания и понимания механизмов онкогенеза не всегда можно получить удовлетворительный результат. Проводится активный поиск клинических и лабораторных маркеров, отличающихся информативностью и общедоступностью. Однако ряд лабораторных показателей и таких клинических симптомов и синдромов, как головная боль, эпилептический синдром и т.д. остаются недостаточно изученными (Зозуля Ю.А., 2007; Шиманский В.Н. и соавт., 2018, Кобяков Г.Л. и соавт., 2018). Поэтому представляется актуальным изучение прогностической значимости маркеров воспаления при онкопатологиях, в том числе у больных с опухолями головного мозга (Grivennikov S.I. et al., 2010). Исследования различных онкологических заболеваний показали прогностическую ценность таких широкодоступных воспалительных маркеров крови, как отношение нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), отношение тромбоцитов к лимфоцитам (PLR), С-реактивный белок и др. (Strojnik T. et al., 2014; Azab B. et al., 2013). Также недостаточно изученным остается вопрос о связи клинических симптомов глиальных опухолей с воспалением. Недооценённым является

вклад воспаления в генез головной боли при опухолях головного мозга. Известно, что возникновение и прогрессирование боли связано с воспалением (Panis C. et al., 2015). Отсутствие в настоящее время практического алгоритма оказания помощи с доказанной эффективностью больным с глиомами головного мозга потребовало выявить прогностическую значимость клинико-лабораторных маркеров: головной боли, эпилептического синдрома, показателя анизоцитоза эритроцитов (RDW), отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), тромбоцитов к лимфоцитам (PLR), скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и отношение С-реактивного белка к альбумину (CAR) при глиомах головного мозга. Поэтому понятна цель исследования определить прогностическую значимость клинико-лабораторных маркеров: головной боли, эпилептического синдрома, показателя анизоцитоза эритроцитов (RDW), отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), отношения тромбоцитов к лимфоцитам (PLR), скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и отношения С-реактивного белка к альбумину (CAR) при глиомах головного мозга.

Научная новизна диссертации определяется самой постановкой проблемы и идеологией проведенных исследований. В отличие от подавляющего большинства работ, посвященных изучению опухолей головного мозга установлена прогностическая ценность лабораторных маркеров воспаления: показателя анизоцитоза эритроцитов, отношения С-реактивного белка к альбумину, отношения нейтрофилов к лимфоцитам при глиомах различной степени злокачественности. Выявлена прямая корреляционная связь между этими лабораторными маркерами воспаления и клиническими маркерами (возраст, степень злокачественности опухоли и функциональный статус Карновского). Доказано, что у пациентов с глиальными опухолями эпилептический синдром (структурно обусловленная эпилепсия) и менее выраженный воспалительный фон коррелируют с появлением IDH-1^{R132H} мутации. При этом независимым фактором является низкий уровень отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR).

Во главу угла рассуждений и полученных в процессе исследования результатов поставлен объект исследования – пациенты с супратенториальными глиомами головного мозга различной степени злокачественности (378 больных). Предмет исследования - клинические проявления в дооперационном периоде, уровень лабораторных маркеров воспаления. Проведен анализ наблюдений по полу, возрасту, неврологическому дефициту, гистологической структуре опухоли, степени радикальности удаления опухолей, дооперационному и послеоперационному функциональному статусу по шкале Карновского, локализации опухоли с учетом

расположения в функционально значимых зонах, медиане выживаемости. Используемые методы статистической обработки соответствуют современным требованиям, а их результаты отличаются высокой степенью достоверности: SPSS версия 20.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) и STATISTICA 7.0 (StatSoft, Inc., USA, Tulsa, OK).

Интересно представлен обзор литературы, из которого можно сделать вывод, что до сего времени недостаточно изучена роль воспаления при глиомах головного мозга. В частности, неизученной или малоизученной при глиомогенезе остаётся прогностическая ценность таких хорошо изученных маркеров воспаления, как показатель анизоцитоза эритроцитов – RDW, отношение нейтрофилов к лимфоцитам – NLR, отношение тромбоцитов к лимфоцитам – PLR, скорость оседания эритроцитов – СОЭ, отношение С – реактивного белка к альбумину – CAR. Кроме того, в предыдущих исследованиях не было детального описания характера головной боли, её длительности и интенсивности при глиальных опухолях головного мозга, а также связи головной боли с клинико-лабораторными маркерами. Наконец, неизученной является связь эпилептического синдрома с воспалительным статусом у больных с мутацией в гене IDH-1 при глиомах различной степени злокачественности. Таким образом, обзор литературы информативен.

В работе хорошо переплетаются собственные данные с литературным материалом, что подтверждает эрудицию автора в рассматриваемой отрасли. Необходимо отметить, что представленный в работе литературный обзор свидетельствует о большом объеме переработанного материала и выборе собственного направления.

Цель исследования сформулирована четко и соответствует основной концепции работы – определить прогностическую значимость клинико-лабораторных маркеров: головной боли, эпилептического синдрома, показателя анизоцитоза эритроцитов (RDW), отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), отношения тромбоцитов к лимфоцитам (PLR), скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и отношения С-реактивного белка к альбумину (CAR) при глиомах головного мозга.

Задачи исследования логично вытекают из поставленной цели и полностью соответствуют содержанию работы.

Достоверность и новизна рецензируемой работы основывается на достаточном по объему числу клинических наблюдений: на анализе 378 больных с глиомами

головного мозга (ГГМ) в возрасте от 18 до 72 лет, средний возраст – $43,58 \pm 0,99$ лет. Все больные поступали в «Национальный центр нейрохирургии» (Астана, Казахстан) на оперативное лечение. Группа 1 (ретроспективное исследование) – 178 пациентов с глиомами GI-IV степеней злокачественности, прошедших оперативное лечение в Центре в 2009-2014 годах. Группа 2 (проспективное исследование) – 200 пациентов с ГГМ GII-IV, прооперированных в 2015-2016 годах.

Интересно сформирована база данных. Показатели, используемые в дальнейшем в расчетах, были внесены в максимально удобном для статистического анализа виде (количественном, порядковом и номинальном). Глубокая статистическая проработка полученных результатов делает их вполне доказательными.

Во второй главе очень хорошо представлен материал, который становится понятным при изучении: Таблица 1. – Распределение наблюдений ретроспективной группы (n=178) по полу и возрасту ($P < 0,05$), Таблица 2. – Характеристика группы ретроспективного наблюдения (n=178) по гистологической структуре опухоли и степени злокачественности ($P < 0,05$). Иммуногистохимическое исследование проводилось в патологоанатомическом отделении по протоколу ручной окраски Thermo Scientific. Была отработана методология иммуногистохимической окраски для определения встречаемости IDH-1R132H мутации. Применялось мышинное моноклональное антитело Anti-IDH1-R132H (clone H09) в концентрации 1:40. Таблица 3. – Локализация и гистоструктура опухоли (классификация ВОЗ 2007 года). Таблица 7. – Частота встречаемости повышенного уровня лабораторных маркеров в зависимости от степени злокачественности глиом ($P < 0,005$), видно, что чаще встречались повышенные показатели NLR (52,4%). Частота встречаемости повышенного уровня RDW и NLR нарастала от доброкачественных к анапластическим глиомам, достигая максимума при глиомах GIII (45,2%) и снижалась при GIV степени злокачественности. При этом наиболее часто максимальный тромбоцитоз встречался при опухолях GI-GIII степеней злокачественности.

Третья глава. Корреляция предоперационных уровней воспалительных маркеров крови с прогнозом у пациентов с глиомами головного мозга (ретроспективное исследование). Своеобразное начало: цель данного исследования – оценка корреляции клинических симптомов и таких воспалительных лабораторных маркеров крови, как показатель анизоцитоза эритроцитов (RDW), отношение нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), тромбоциты (PLT) со степенью злокачественности ГГМ и выживаемостью

пациентов. Изучая таблицы с 17 по 25 понятно, что данное исследование было ретроспективным и проводилось по материалам больных с глиальными опухолями головного мозга, прооперированных за период с 2009 по 2014 годы в Национальном центре нейрохирургии, Астана, Казахстан, отделении патологии центральной нервной системы.

В разделе 3.1.1 Прогностическая роль RDW, NLR и тромбоцитов, анализ Каплана-Мейера хорошо приведены оценки прогностической значимости лабораторных воспалительных маркеров. Были построены кривые выживаемости Каплана-Мейера, стратифицированные высокими уровнями показателя анизоцитоза эритроцитов RDW и отношения нейтрофилов к лимфоцитам 4). Для рассмотрения ассоциации NLR, RDW и тромбоцитов со степенью злокачественности глиом был применён дисперсионный анализ ANOVA и Duncan's post-hoc-тест. Было показано значительное увеличение NLR у пациентов с GIV по сравнению с GI, GII или GIII ($P < 0,043$). С другой стороны, когда исследуемые параметры были проанализированы как категориальные (χ^2 -тест), значительная ассоциация была получена между RDW и степенью злокачественности ($P < 0,033$ в группах GI-IV и $P < 0,011$ в группах LGG и HGG). Украшает этот раздел клинический пример №1, который демонстрирует плохой прогноз при неблагоприятных клинических и лабораторных маркерах воспаления.

Клинический пример № 2, в приведённом примере крайне неблагоприятный прогноз обусловлен преимущественно злокачественной природой опухоли (глиобластома), расположенной в функционально значимой зоне (ствол), а также большими размерами образования и повышенными показателями воспаления в крови.

Для изучения факторов, влияющих на выживаемость, применялась модель пропорциональных рисков Кокса (таблица 26). Таким образом, в этой главе были изучены ассоциации медианы выживаемости с уровнями этих лабораторных маркеров воспаления при глиомах различной степени злокачественности. Установлена высокая прогностическая ценность лабораторных маркеров воспаления – RDW и NLR.

Глава 4. Прогностическая значимость головной боли при глиомах головного мозга. Очень понятно сочетание текста с таблицами (28-47), рисунками с 7-15. Клинический пример № 3, который демонстрирует плохой прогноз при неблагоприятных клинических маркерах, в т.ч. головной боли, а также воспалительных параметров в крови при глиосаркоме. И красивое резюме, что структура головной боли, её интенсивность и длительность, коррелировали с повышенным уровнем таких клиничко-лабораторных маркеров воспаления, как локализация опухоли в

функционально значимых и близких к ним зонах, определяемых по шкале Sawaya, функциональным статусом пациента, определяемом по шкале Карновского, степенью злокачественности опухоли, медианой выживаемости. Наиболее значимыми маркерами воспаления при головных болях явились отношение нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) и С-реактивный белок (СРБ).

Глава 4. Прогностическая значимость головной боли при глиомах головного мозга. Вероятно, сколько лет существует человек, столько лет существует и головная боль, которая известна человечеству очень давно. Вряд ли на Земле есть хоть один человек, который не знал бы, что такое головная боль. Это неприятное, тягостное, мучительное, порой даже нестерпимое ощущение, которое невозможно забыть, испытав хотя бы один-единственный раз!

Обратите внимание - проведен анализ ассоциации головной боли с предоперационным уровнем С-реактивного белка (СРБ), отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), анизоцитоза эритроцитов (RDW) и тромбоцитов (PLT) у пациентов с ГГМ. Кроме того, проанализирован вклад в проявление головной боли таких клинических параметров, как возраст, пол, индекс массы тела (ИМТ), артериальная гипертензия (АГ), близость опухоли к функционально значимым зонам, определяемым по шкале Sawaya, функциональный статус по шкале Карновского (KPS), дислокация срединных структур головного мозга и степень злокачественности опухоли. Уже это отличает работу от других исследований. Это новое. Совершенно правильно в проспективной группе по изучению головной боли были диагностированы доброкачественные опухоли (GII): диффузные астроцитомы (16), олигодендроглиомы (18). Группа GIII насчитывала 48 больных и включала следующие гистологические варианты: анапластические олигодендроглиомы (30), анапластические астроцитомы (16) и анапластические ганглиоглиомы (2). Среди самых агрессивных глиом (GIV) было 62 наблюдения с глиобластомами и 4 – с глиосаркомами.

В таблицах с 28-39 очень подробно разбираются особенности головных болей. При изучении группы пациентов с головной болью был проведен анализ распределения количественных параметров, который показал, что распределения показателей «возраст» и «индекс массы тела» (ИМТ) симметричны и близки к нормальному, в то время как остальные четыре показателя (С-реактивный белок СРБ, отношение нейтрофилов к лимфоцитам NLR, показатель анизоцитоза эритроцитов RDW и тромбоциты PLT) имеют распределения с положительной асимметрией. Поэтому для использования их в дискриминантном анализе и в анализе главных компонент

показатели были симметризованы с помощью логарифмирования (pСРБ, pNLR, pRDW и pPLT). Соответственно, для возраста и ИМТ указаны среднее и стандартное отклонение, для остальных показателей - медиана и квартили. Полученные результаты, представленные в таблице 40, показывают, что имеется статистически значимая разница между двумя группами пациентов, с головной болью и без головной боли, для СРБ ($P=0,002$) и NLR ($P=0,003$). Клинический пример № 3 демонстрирует плохой прогноз при неблагоприятных клинических маркерах, в т.ч. головной боли, а также воспалительных параметров в крови при глиосаркоме. В представленном клиническом примере прогноз крайне неблагоприятный: глиосаркома, IDH-1 (-), расположенная в функционально значимой зоне, частичное удаление, KPS=50%, гипертензионные головные боли, не проведен курс адьювантной терапии, увеличение нескольких воспалительных показателей в крови: RDW, лейкоциты, тромбоциты, NLR, PLR, СРБ и САР. Связь СРБ и NLR с наличием головной боли хорошо прослеживается с помощью диаграмм Тьюки (рисунки 11, 12). Кроме того, как видно из рисунков, в группе больных с головной болью оба показателя имеют большую вариабельность распределения, чем в группе больных без головной боли. При этом вариабельность распределения СРБ (рисунок 11) выше, чем в случае NLR (рисунок 12). Проанализирована форма головной боли в зависимости от близости опухоли к функционально значимым зонам, определяемым в соответствии со шкалой Sawaya, согласно которой «1» – опухоль находится в функционально мало значимой зоне, «2» – опухоль находится близко к функционально значимой зоне, «3» – опухоль находится в функционально значимой зоне (рисунок 13). В резюме этой главы показано, что изучена структура головной боли при доброкачественных и злокачественных глиомах, а также проведен анализ корреляционных связей головной боли в предоперационном периоде с клиническими, воспалительными маркерами крови, прогнозом и медианой выживаемости пациента.

ГЛАВА 5. Эпилептический синдром (структурно обусловленная эпилепсия) при глиомах головного мозга.

Для оценки корреляционных связей между параметрами крови, проанализированными как категориальные переменные, использовался критерий Пирсона χ^2 (хи-квадрат). Установлена сильная ассоциация между NLR и PLR ($\chi^2 = 0,701$, $P<0,000$), PLR и СРБ ($\chi^2 = 0,218$, $P<0,005$) и между NLR и СРБ ($\chi^2 = 0,174$, $P<0,026$). Кроме того, наблюдалась тесная связь между NLR и RDW ($\chi^2 = 0,130$, $P<0,083$). Затем был применён одномерный дисперсионный анализ ANOVA для оценки различий по NLR, PLR, RDW и СРБ в группах пациентов с эпилептическими

приступами и без них. Значительные различия между группами были выявлены в значениях NLR ($F = 6,634$, $P < 0,011$), PLR ($F = 7,485$, $P < 0,007$) и СРБ ($F = 3,99$; $P < 0,047$). Таким образом, результаты обоих анализов продемонстрировали значимую связь между NLR, PLR и СРБ. Клинический пример № 4. Хорошо показывает, что прогноз относительно неблагоприятен: (злокачественная глиома с повышением лейкоцитов и NLR). Клинический пример № 5 демонстрирует неблагоприятный прогноз в наблюдении со злокачественной глиомой, структурно обусловленной эпилепсией и повышенными параметрами воспаления в крови.

Своеобразно представлен раздел 5.1 Влияние предоперационной противоэпилептической терапии на уровень NLR, PLR, RDW и СРБ. Как видно из таблицы 56, ни один из четырёх воспалительных маркеров не показал значимой связи с терапией; однако, в группе пациентов, получавших антиэпилептические препараты, можно отметить небольшую тенденцию к снижению уровня NLR ($P = 0,126$). Изучено влияние антиэпилептической терапии на уровень маркеров воспаления. С этой целью был применен t-тест для оценки разницы средних значений NLR, PLR, СРБ и RDW в обеих группах. Средний уровень NLR был несколько ниже в группе, принимавшей антиконвульсанты, по сравнению с другой группой ($2,81 \pm 0,29$ против $3,72 \pm 0,51$); однако, разница не была статистически значимой ($P < 0,073$). Также не было существенной разницы между обеими группами по PLR ($P < 0,647$), RDW ($P < 0,239$) и СРБ ($P < 0,977$). Кроме того, для сравнения медиан исследуемых параметров, был использован непараметрический U-тест Манна-Уитни в двух группах пациентов. Результат был несколько лучше, хотя также статистически незначимым: NLR ($P < 0,113$), RDW ($P < 0,113$), СРБ ($P < 0,321$) и PLR ($P < 0,912$). Таким образом, представляется вероятным, что АЭП-терапия может способствовать снижению воспаления. Проанализированы корреляционные связи эпилептического синдрома с рядом клиничко-лабораторных маркеров и выживаемостью при глиомах головного мозга. Особое внимание уделялось анализу корреляции между появлением IDH мутации и учащением наблюдений с эпилептическим синдромом, а также IDH мутацией и пониженным уровнем маркеров воспаления крови. Доказано, что у пациентов с глиальными опухолями эпилептический синдром (структурно обусловленная эпилепсия) и менее выраженный воспалительный фон коррелируют с появлением IDH-1R132H мутации. При этом независимым фактором является низкий уровень отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR).

Вполне закономерными представляются факты практического внедрения результатов диссертационного исследования в учебный лечебный процесс кафедры неврологии и психиатрии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» министерства здравоохранения РФ и практическую работу АО «Национальный Центр Нейрохирургии», Казахстан, Астана. Работа была подробно изучена в СООД г. Екатеринбург с марта 2018 по март 2019 гг., полученные данные внедрены в работу нейрохирургического отделения, клинической и лабораторной диагностики, а так же планируется использовать в патологоанатомических отделениях расположенных на базе ГБУЗ СО СООД, г. Екатеринбурга. Акт внедрения прилагается.

Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы. Работа написана грамотно и в этом плане замечаний нет.

Заключение написано хорошо и не требует дополнений. Диссертация достаточно иллюстрирована.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Число и представительность публикаций достаточно. Выводы и основные практические рекомендации диссертации обоснованы, соответствуют поставленным целям и задачам исследования.

Тем не менее, по ходу доклада в тексте есть вопросы, которые носят принципиальный характер и требуют объяснения соискателя ученой степени.

1. Как известно, уровень экспрессии HIF-1 α зависит от уровня кислорода в крови: в состоянии гипоксии наблюдается повышение его активности. Тогда как IDH-мутация приводит к активации HIF-1 α по независимому от гипоксии механизму. HIF-1 α регулирует активность многих генов, обеспечивающих адаптацию клеток к условиям гипоксии, включая гены, отвечающие за регуляцию ангиогенеза, метаболизма, роста и выживания клеток. Хотелось более подробно узнать в каком проценте случаев это вы отмечали.

2. Вы отмечаете, что особый интерес в контексте вашего исследования представляют данные о значимой ассоциации содержания СРБ с мигренью. Ваше мнение, насколько это достоверно у больных с глиальными опухолями.

3. Вы отмечаете, что хроническое воспаление является одним из ключевых механизмов онкогенеза, очень немногие исследовали RDW как потенциальный маркер прогнозирования исхода у онкологических больных в каком проценте Вы это отметили в своей группе.

4. Из представленных данных таблицы 10 патоморфологической характеристики группы видно, что в Вашем исследовании преобладали наблюдения со злокачественными опухолями – 170 (85%). В каком проценте случаев у них отмечались эпилептические припадки. Какие противоэпилептические препараты использовали.
5. Из таблицы 19 видно, что частота встречаемости наблюдений с общемозговыми и очаговыми симптомами, а также нарушениями высших корковых функций увеличивается при нарастании степени злокачественности глиом; однако, для эпилептического синдрома такой зависимости не выявлено. Это не совсем понятно и требует разъяснения.
6. Построенная для NLR ROC-кривая не дала статистически значимого порогового значения, поэтому пороговое значение было выбрано Вами на основании литературных данных (NLR=4.0) (Allen L.A. et al., 2010; Bharat B. Aggarwal et al., 2014). Почти в половине наблюдений этот параметр превышал норму. Чем Вы это объясните.

Заданные вопросы носят дискуссионный характер и в лишний раз подчеркивают тот интерес, который вызывает рецензируемая научная работа.

Заключение. Диссертационная работа АУЭЗОВОЙ РАУШАН ЖУМАНАЗАРОВНЫ «ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РЯДА КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА» представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни, является законченной научно-квалификационной работой, совокупность положений которой содержит решение научной задачи, касающейся лечения пациентов с глиомами головного мозга, имеющее существенное значение. Работа вносит существенный вклад в теорию и практику здравоохранения. Диссертация полностью соответствует требованиям п.9 (абзац 1) «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013г. с изменениями внесенными постановлением Правительства Российской Федерации № 1168 от 01.10.2018 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждение ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни.


Официальный оппонент, доктор медицинских наук, профессор кафедры нервных болезней, нейрохирургии и медицинской генетики

Шершевер А.С.

г. Екатеринбург

« 9 » апреля 2019 г.

Подпись д.м.н. Шершевера А.С. заверяю

Начальник управления кадровой политики и правового обеспечения ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, УГМУ  С.В. Чупракова 

620028, г. Екатеринбург, ул.Репина, 3

Почтовый адрес организации г. Екатеринбург, ул. Репина, д.3.usma@usma.ru, (343) 214-86-71; Факс (343) 371-64-00

shershever@mail.ru (8 912 24 64 671)