

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, доцента, заместителя генерального директора по научной работе ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России» Баклаушева Владимира Павловича на диссертационную работу Ачкасовой Ксении Андреевны «Определение повреждения белого вещества перитуморальной области головного мозга методом оптической когерентной томографии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.2. – Биофизика.

Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Ачкасовой К.А. посвящена решению актуальной проблемы современной нейроонкологии и нейрохирургии – поиску нового способа улучшения качества проводимых резекций злокачественных новообразований головного мозга. Основной особенностью злокачественных опухолей головного мозга является их инфильтративный характер роста в окружающие нервные ткани, в частности, белое вещество. Вследствие этого граница между опухолью, разрушенными тканями и областями здоровых проводящих путей становится визуально неразличимой, что требует использования дополнительных методов диагностики, позволяющих дифференцировать данные ткани между собой. Используемые в настоящее время технологии интраоперационной визуализации, включающие методы флуоресцентной диагностики, а также УЗИ, направлены исключительно на поиск опухоли и не позволяют обнаружить области повреждения белого вещества в перитуморальной зоне опухолей. Это влечет за собой формирование послеоперационных осложнений, связанных с повреждением здоровых проводящих путей, или возникновением раннего рецидива опухоли вследствие неполного удаления участков белого вещества, обильно инфильтрированных опухолевыми клетками.

Перспективным методом, способным облегчить проведение опухолевых резекций и сохранить онко-функциональный баланс у нейроонкологических пациентов, является оптическая когерентная томография (ОКТ). Данная технология обладает рядом преимуществ, включающих неинвазивность, высокую скорость получения и обработки изображений, возможность интраоперационного применения, отсутствие повреждающего влияния на биоткань. В представленной работе диссертантом демонстрируется возможность применения метода ОКТ для детектирования поврежденных областей белого вещества в перитуморальной зоне глиальных опухолей головного мозга и их последующего разграничения от опухолевой ткани и неповрежденного белого вещества.

Учитывая вышесказанное, актуальность представленной темы не вызывает сомнений.

Научная новизна

Научная новизна диссертационного исследования Ачкасовой К.А. очевидна. Автором впервые была продемонстрирована возможность использования ОКТ для определения морфологического статуса белого вещества головного мозга. В частности, впервые была установлена корреляция между структурными характеристиками белого вещества, определенными на основании оригинального алгоритма цифровой обработки иммуногистохимических изображений, и его рассеивающими свойствами, установленными при помощи вычисления

коэффициента затухания ОКТ сигнала. Было убедительно показано, что миелиновые волокна являются основным структурным компонентом, определяющим характер ОКТ сигнала, регистрируемого от белого вещества. Вследствие этого, изменения структуры миелиновых волокон могут быть зарегистрированы на основании изменений регистрируемого ОКТ сигнала. На исследованных экспериментальных моделях глиальных опухолей автором было установлено, что инвазивный рост данных новообразований приводит к статистически значимому снижению значений коэффициента затухания ОКТ сигнала в сравнении с нормой, что связано с повреждением миелиновых волокон, а также формированием отека и инфильтрацией опухолевыми клетками. Выявленные закономерности были в последующем подтверждены на послеоперационных образцах пациентов с глиомами головного мозга. Ачкасовой К.А. впервые были сформулированы ОКТ признаки белого вещества, поврежденного вследствие роста опухоли, а также установлена диагностическая точность применения ОКТ для дифференцировки данных областей от неповрежденной ткани белого вещества и опухоли.

Теоретическая и практическая значимость результатов диссертационного исследования

Диссертационная работа Ачкасовой К.А. имеет несомненную научную и практическую значимость, так как полученные результаты расширяют научные представления о влиянии морфологических изменений биотканей на их рассеивающие свойства, а также демонстрируют новые области применения метода ОКТ для изучения патологии нервной ткани. Практическая значимость работы обуславливается перспективой трансляции полученных результатов в область нейрохирургии и нейроонкологии с целью облегчения принятия клинических решений в ходе нейрохирургических вмешательств и последующего увеличения качества опухолевых резекций.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертационной работе Ачкасовой К.А., обосновывается результатами исследования, проведенного лично диссертантом, а также данными мировой литературы. Указанные выводы корректно сформулированы и логично вытекают из полученных результатов, в полной мере соответствуя поставленным задачам. Сформулированные выводы и научные положения представлены и обсуждены на ряде конференций и научных конкурсов, подкреплены 5 публикациями в международных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, индексируемых в базах Web of Science и Scopus, 3 главами в книгах и 19 публикациями в сборниках материалов конференций.

Достоверность и новизна научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Достоверность научных положений и выводов обосновывается достаточной выборкой исследуемых образцов ткани головного мозга экспериментальных животных и пациентов, корректно выбранными методами статистического анализа. Результаты ОКТ исследований были верифицированы гистологическим и

иммуногистохимическим методами, до сих пор являющимися «золотым стандартом» диагностики большинства заболеваний головного мозга.

Сформулированные положения, вынесенные на защиту, полностью последовательно аргументированно обоснованы в тексте диссертации и опубликованных научных работах.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа Ачкасовой К.А. изложена в традиционном стиле: включает 136 страниц машинописного текста, содержит введение, 4 главы, заключение, выводы и библиографический указатель. Основные главы диссертации содержат обзор литературы, характеристику используемых объектов и методов исследования, подробное описание результатов и их обсуждение.

Диссертация проиллюстрирована 41 рисунком и 8 таблицами.

Во **введении** Ачкасовой К.А. сформулирована цель и задачи работы, обоснована актуальность, теоретическая и практическая значимость проводимого исследования, его научная новизна, а также представлены основные положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы посвящен детальному анализу литературных источников, посвященных проблеме изучения влияния роста злокачественных новообразований головного мозга на ткань белого вещества, и возможностям обнаружения формирующихся изменений при помощи различных методов диагностики. Кроме того, подробно описаны современные мировые результаты по применению используемого метода ОКТ для визуализации тканей головного мозга.

В главе **Объекты и методы исследования** подробно описаны все этапы проведенных экспериментов, детальность описания является достаточной для их воспроизведения. Детально изложены характеристики используемых моделей глиальных опухолей, дано описание материала, полученного от пациентов в ходе оперативных вмешательств и аутопсии. Отдельно описаны технические характеристики используемой ОКТ-установки, а также алгоритмы для количественной обработки ОКТ и иммуногистохимических изображений.

Глава **Результаты** посвящена подробному описанию полученных результатов и включает в себя несколько разделов, соответствующим поставленным задачам. Все разделы являются логически связанными между собой и подкрепляются сформулированными выводами.

Первый этап исследования был посвящен подбору оптимальных параметров для расчета и представления коэффициента затухания, вычисляемого по ОКТ данным мозговой ткани. В последующем в исследовании, проведенном на аутопсийных образцах ткани головного мозга пациентов, Ачкасовой К.А. была изучена взаимосвязь между морфологией белого вещества и коэффициентом затухания регистрируемого ОКТ сигнала, которая была количественно охарактеризована с помощью корреляционного анализа. Третий этап работы проводился на лабораторных животных, у которых проводилось моделирование влияния глиальных опухолей на ткань белого вещества. При этом, используемые опухолевые модели отличались по степени злокачественности, темпам роста и характеру инфильтративного роста в окружающие ткани. Полученные на данном этапе результаты были в последующем подтверждены в исследовании, проведенном на послеоперационных образцах ткани головного мозга, полученных от пациентов с глиомами головного мозга. Автором был определен диапазон значений

коэффициента затухания ОКТ сигнала, характерный для областей поврежденного перитуморального белого вещества, неповрежденного белого вещества и опухолевой ткани, а также сформулированы характерные признаки цветокодированных карт для каждого типа ткани. В завершении диссертантом была определена диагностическая точность метода ОКТ для дифференцировки данных типов ткани между собой.

В главе *Обсуждение* автор приводит обсуждение полученных результатов и сравнивает их с ранее опубликованными работами других известных научных групп.

Заключение и Выводы резюмируют изложенные результаты и в полной мере соответствуют поставленной цели и задачам исследования.

Диссертационная работа носит завершённый характер и является самостоятельным научным исследованием, соответствующим заявленной теме, заслуживающим положительной оценки. Автореферат диссертации в полной мере отражает содержание диссертационной работы, оформлен лаконично и отражает основные результаты, положения и выводы.

1. Методическим ограничением работы, на мой взгляд, является то, что все образцы (включая образцы экспериментальных опухолей от крыс) исследовались *ex vivo*. Сам по себе забор ткани может нарушать структуру белого вещества, плюс, процессы аутолиза, которые в нефиксированной ткани мозга начинаются практически сразу после иссечения – всё это вносит дополнительные помехи в результаты.
2. Положения, выносимые на защиту с моей точки зрения сформулированы слишком описательно. Положения не должны дублировать Выводы.
3. Замечание по Методам исследования. В п. 2.2.2. (Гистологические методы) приводится окрашивание гематоксилином эозином и люксолевым синим. Затем в заголовке п.2.5.1. возникает крезиловый фиолетовый. Следовало бы описать все гистохимические методы вместе. При окрашивании люксолевым синим всегда используется докрасивание ядер (либо толлуидиновым синим, либо крезиловым виолетовым по методу И.В. Викторова), диссертант это упустила при описании методики.
4. Вообще – в диссертации в целом, мне не хватило системности гистологического и иммуногистохимического анализа. Ниже перечень вопросов, касающихся гистологических методов и ИГХ.
5. По какому принципу по отношению к ходу миелиновых волокон приготавливались срезы мозга человека? На рисунках представлены поперечные и косые срезы. Так на Рис. 24 плоскость среза ствола (а/в) – косая по отношению к волокнам, а плоскость среза коры – поперечная. В разделе 3.2.2. автор пытается классифицировать срезы, в зависимости от хода волокон белого вещества. Но ведь ход волокон полностью определяется плоскостью среза! Как интерпретировать такую разную информацию?
6. Какие гистологические критерии «разрушения миелиновых волокон» использовались? Световая микроскопия срезов окрашенных люксолевым синим и антителами к МВР может позволить сделать заключение о демиелинизации, но не о «разрушении миелиновых волокон» (строго говоря, для описания разрушения миелиновых волокон необходима просвечивающая электронная микроскопия). Если под разрушением подразумевается инвазия опухолевой ткани в белое вещество и разрушение/замещение нормальной

- нервной ткани – тогда зачем в экспериментах на животных применять ОКТ, если эта инвазия прекрасно визуализируется – гистологически?
7. Какие, помимо миелиновых волокон «структуры белого вещества» определяла автор? (п.2.5.1., пп.4). Если речь про ядра клеток – то их не вполне корректно называть «структурами белого вещества».
 8. Из всего разнообразия гистологических методов окрашивания мозга человека автор приводит в работе только 1 рис. (Рис. 28). Или Рис. 36 это тоже срезы человека? (в подписи это не указано).
 9. Критерии «повреждения белого вещества» представляются не очень чёткими. В повреждении, как правильно отмечает автор, есть два фактора: демиелинизация и воспалительная или опухолевая инфильтрация. Почему было бы не измерить степень демиелинизации с помощью количественных алгоритмов? (посчитать positive pixels и прокоррелировать с коэффициентом затухания). Почему было не посчитать плотность ядер – используя трешхолд и тоже проанализировать корреляцию с коэффициентом затухания?
 10. В итоге непонятно (мне по крайней мере) – понижение коэффициента затухания связано с клеточной инфильтрацией или действительно с разрушением белого вещества? Судя по тому, что в гиперцеллюлярной глиобластоме коэффициент затухания сильно ниже, чем в нормальной ткани – могу предположить, что он обратно пропорционален количеству ядер (содержащих плотную ДНК).
 11. Не понятно, как определяли коэффициент затухания при повреждении белого вещества при глиомах 101/8 и 10-17-2. Судя по Рис. 5, в очаге деструкции коэффициент имеет одно значение, а в области сохранного мозолистого тела – другое.
 12. Ни на одном рисунке картина ОКТ не совпадает с гистологической картиной. Это затрудняет интерпретацию результатов ОКТ.
 13. Относительно глиомы С6, следует сказать, что она также характеризуется инвазивным ростом (Chekhonin et al., 2006), поэтому несколько странно, что автор не наблюдала инфильтрации окружающих тканей опухолевыми клетками. При этом, собственно, на Рис. 33 на мой взгляд присутствуют признаки инвазивного роста – неправильная форма опухоли, гетерогенная структура опухоли, нечёткий контур мозолистого тела – всё свидетельствует о процессе инвазии.
 14. Нельзя говорить «привитые модели глиом», прививают не модель, а глиому, или клетки глиомы.
- Несмотря на обилие замечаний, они не являются принципиальными и способными поставить под сомнение научно-квалификационную ценность проведенной работы.

Заключение

Диссертационная работа Ачкасовой К.А. «Определение повреждения белого вещества перитуморальной области головного мозга методом оптической когерентной томографии», является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под научным руководством доктора медицинских наук, профессора Гладковой Натальи Дорофеевны, представляющей научно-практический интерес и содержащей новое решение актуальной научной задачи, посвященной определению признаков повреждения перитуморального белого вещества, возникающего под воздействием инфильтративного роста глиом

головного мозга на основании данных, получаемых методом оптической когерентной томографии.

Диссертационная работа Ачкасовой К.А. полностью соответствует требованиям на соискание ученой степени кандидата наук согласно п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021 г., № 1539 от 11.09.2021 г., № 1690 от 26.09.2022 г., № 101 от 26.01.2023 г.), а ее автор, Ачкасова К.А., заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.2. – Биофизика.

Официальный оппонент:

Заместитель генерального директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России»,
доктор медицинских наук (03.01.04 – биохимия)

Баклаушев Владимир Павлович

«08» 02 2024 года

Подпись д.м.н., Баклаушева В.П. заверяю:



УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
СУВОРОВ А. Ю.