

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора,
завідувача кафедри патологічної та топографічної анатомії
Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика
Дядик Олени Олександрівни
на дисертаційну роботу асистента кафедри патологічної анатомії та судової
медицини Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького

Вариводи Олени Юріївни

**«Поліпозні захворювання товстої кишки: клініко-морфологічні
особливості та прогнозування перебігу»**,

представлену до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03
при Харківському національному медичному університеті на здобуття
наукового ступеня кандидата медичних наук
за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія

Актуальність теми дисертації

Захворювання товстої кишки є актуальною проблемою ХХІ століття, оскільки клінічні прояви різноманітні і не завжди чітко виражені та більшість із них має період безсимптомного перебігу. Найбільш поширеними ураженнями товстого кишечника є поліпозні ураження, до яких належать всі процеси, що супроводжуються випинанням слизової оболонки в просвіт кишки. Частина з них належить до облігатних передракових новоутворень, які при несвоєчасній діагностиці та неадекватному лікуванні можуть перейти у колоректальний рак. Сучасні методи ранньої діагностики дозволяють запобігти розвитку колоректального раку майже у 95 % випадків. За даними різних авторів у практично здорових людей частота виявлення поліпів товстої кишки варіює в широких межах, досягаючи 49% від загальної кількості. За даними аутопсійного матеріалу поліпи діагностують у близько 30 % людей, померлих від різної патології.

Малігнізація кишкових поліпів зустрічається досить часто (до 25%) , що є підставою для пильної уваги фахівців до проблеми диференційної діагностики та лікування цих новоутворів.

Своєчасне виявлення передпухлинних станів і раннього раку товстої кишки розглядається в якості профілактики розвитку інвазивного колоректального раку, який є причиною високої летальності та інвалідизації працездатного населення в розвинених країнах світу та в Україні.

Все наведене це обумовлює актуальність обраної теми дисертаційної роботи Вариводи О.Ю., яка присвячена удосконаленню прижиттєвої морфологічної діагностики поліпозних захворювань товстої кишки на підставі визначення певних патоморфологічних критеріїв прогнозування перебігу як облігатних так і факультативних передракових станів, з метою ефективної онкопрофілактики

Зв'язок теми дисертаційної роботи з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України «Вивчення патоморфологічних, етіологічних та патогенетичних особливостей захворювань щитоподібної залози, серцево-судинної, травної, сечовидільної та репродуктивної систем і перинатального періоду з метою удосконалення їх морфологічної діагностики», № державної реєстрації 0113U000205 (2013-2017 р.р.), в якій автор була співвиконавцем.

Новизна дослідження та одержаних результатів

На підставі проведених сучасних морфологічних досліджень уперше встановлено, що гіперпластичні поліпи та аденоми з низьким ступенем дисплазії за наявності в них мікросателітної нестабільності є групою ризику щодо розвитку колоректального раку. Встановлено, що аденоми з високим ступенем дисплазії продемонстрували збережену експресію білків MSH2, MSH6, PMS2 та MLH1, вони набувають злоякісності шляхом хромосомної нестабільності. Автором на підставі отриманих результатів висунув гіпотезу,

що максимальний ризик мікросателітної нестабільності може мати місце у пацієнтів із гіперпластичними поліпами та аденомами з низьким ступенем дисплазії.

Вперше встановлено, що прогресія аденом різного ступеня дисплазії не обов'язково є послідовною та не завжди проходить всі стадії переходу з дисплазії низького ступеня до дисплазії високого ступеня та завершується малігнізацією. Автором доповнено наукові дані про поширення, локалізацію, клініко-морфологічні варіанти поліпозних уражень товстої кишки з безсимптомним перебігом в різних вікових групах. Встановлено, що комплексна оцінка клініко-морфологічних особливостей із імуногістохімічним визначенням експресії маркерів системи мікросателітної нестабільності - MMR (mismatch repair) поліпозного ураження товстої кишки може бути використано в прогнозуванні перебігу захворювання.

Теоретичне значення результатів дослідження

Результати дисертаційної роботи доповнюють та поглиблюють сучасні уявлення про перебіг та наслідки поліпозних захворювань товстої кишки, надають нові дані щодо шляхів реалізації інвазивних властивостей пухлинних клітин, можливостей оцінки потенціалу малігнізації поліпозних уражень товстої кишки та прогнозування їх перебігу.

Практичне значення результатів дослідження

На підставі отриманих результати можливо підвищення якості прижиттєвої діагностики колоректального раку у пацієнтів з безсимптомним перебігом поліпозного ураження товстої кишки. Отримані данні дозволяють розробити і впровадити рекомендації щодо прогнозування розвитку злякисних трансформацій поліпів. Імуногістохімічне визначення мікросателітної нестабільності – особливості експресії білків системи MMR-s (MSH2, MSH6, MLH1, PMS2) може бути застосовано при первинному скринінгу пацієнтів із синдромом Лінча, гіперпластичними поліпами та

аденомами з низьким ступенем дисплазії, всіх випадків колоректального раку. Мутації відповідних генів у 100% випадків супроводжуються випадінням експресії білків системи MMR задля призначення таргетної терапії у випадках колоректального раку та прогнозування перебігу захворювання.

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

В дисертаційній роботі Вариводи О.Ю. сформульовані нові положення, висновки і практичні рекомендації, які базуються на достатній кількості морфологічних досліджень товстої кишки у випадках «безсимптомного» перебігу (з боку шлунково-кишкового тракту), в яких було діагностовано поліпозне ураження останньої, на виділенні репрезентативних груп досліджень, на застосуванні адекватних, доцільних і сучасних патоморфологічних та математично-статистичних методів аналізу отриманих результатів.

Для досягнення мети і вирішення поставлених задач дисертанткою проведено достатню кількість патоморфологічних досліджень аутопсійного та біопсійного матеріалу поліпів товстої кишки: проаналізовано консультаційні висновки кафедри патологічної анатомії та судової медицини ЛМНУ за 12 років (за період 2005–2016 роки) щодо 825 поліпозних уражень товстої кишки у 760 пацієнтів з ретроспективною оцінкою клініко-морфологічних особливостей з розподілом архівного матеріалу на групи і формуванням бази даних зі статистичною обробкою в прикладній програмі «Microsoft Excel 2010»; Проведено проспективне дослідження патоморфологічних, у тому числі імуногістохімічних, особливостей вперше діагностованих поліпозних новоутворів товстої кишки з безсимптомним перебігом на поточному матеріалі 200 аутопсій, самостійно виконаних на базі КЗ ЛОР ЛОПАБ. Усі 73 поліпозні ураження товстої кишки з безсимптомним перебігом, виявлені у 64 аутопсійних випадках, були

поділені на 4 групи: гіперпластичні поліпи, аденоми з низьким ступенем дисплазії, аденоми з високим ступенем дисплазії та аденокарциноми. Автором було проведено зіставлення макроскопічної картини з результатами мікроскопічного, гістохімічного та імуногістохімічного дослідження, яке включало визначення проліферативної активності, особливості мітотичної активності, окиснювальної модифікації білків епітеліальних клітин поліпів, функціональної здатності келихоподібних клітин та системи мікросателітної нестабільності - визначення експресії білків MSH2, MSH6, PMS2 та MLH1.

Достовірність отриманих результатів та висновків дисертаційної роботи засвідчується ґрунтовно проведеними, сучасними математично-статистичними методами з використанням ліцензованого програмного забезпечення.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті

Основні положення дисертаційної роботи повністю викладені в 12 наукових працях, у тому числі 6 статей, 5 з яких у фахових виданнях України, які індексуються міжнародними наукометричними базами (з яких 2 статті – без співавторів), 1 стаття – в іноземному виданні (Німеччина); 6 робіт оприлюднені в матеріалах науково-практичних конференцій і конгресів. Опубліковані праці в повній мірі відображають зміст та результати дисертаційної роботи.

В авторефераті стисло викладені матеріали дисертаційної роботи, її основні положення, висновки, надано практичні рекомендації.

Структура і зміст дисертації

Дисертаційна робота Вариводи О.Ю. оформлена згідно «Основних вимог до дисертацій та авторефератів дисертацій» ДАК України., викладена державною мовою на 249 сторінках друкованого тексту (основний текст – 148 сторінок), складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів

дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальненню результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 88 рисунками та 19 таблицями. Список літератури містить 274 джерела (53 кирилицею та 221 латиницею).

У вступі автор переконливо висвітлює актуальність теми, зв'язок з науковими планами і темами, чітко формулює мету та завдання дослідження, характеризує наукову новизну та практичну значущість отриманих результатів, особистий внесок дисертанта, апробацію результатів дисертації, загальні характеристики роботи.

Характеристика роботи за розділами:

У **першому розділі**, що присвячений огляду літератури, автор поглиблено аналізує стан проблеми, сучасні уявлення про патоморфологічні особливості поліпозного ураження товстої кишки, сучасні уявлення їх прогресування. Проведений ретельний літературний аналіз щодо реалізації інвазивних властивостей поліпозних уражень товстої кишки, значення оцінки експресії білків системи репарації ДНК спільно з оцінкою клініко-морфологічних особливостей щодо прогнозування їх перебігу. Саме завдяки такому поглибленому аналізу даних сучасної літератури автору вдалось визначити невирішені аспекти даної проблеми, що потребують дослідження, вдосконалення та окреслює основні напрями їх подальшого вирішення.

У **другому розділі** «Матеріали і методи дослідження» дисертантом подається необхідна інформація щодо об'єму, груп та методів дослідження. Використані в роботі патоморфологічні, в тому числі гістохімічні та імуногістохімічні методи дослідження є сучасними та дозволяють у повному обсязі розв'язати поставлені завдання. Використані методи статистична обробка результатів сучасні, доцільно використані, що дозволяє підтвердити достовірність отриманих результатів.

Третій розділ дисертаційної роботи складається з 4 підрозділів, присвячений ретроспективному аналізу біопсійного матеріалу за 12-річний

період, з метою встановлення частоти, структури, статеві-вікового розподілу, а також визначення морфологічних особливостей поліпозних уражень товстої кишки. Автор продемонструвала випадки сімейних поліпозних синдромів (сімейний аденоматозний поліпоз та синдром Гартнера). В розділі наведений рідкий клінічний випадок синдрому Гарднера, що прикрашає роботу. Розділ гарно ілюстрований схемами та діаграмами, що значно поліпшує сприйняття викладеного матеріалу.

У **четвертому розділі** висвітлена загальна характеристика випадків вперше діагностованих безсимптомних поліпозних новоутворень товстої кишки на підставі проспективного аутопсійного дослідження (виконано 200 аутопсій пацієнтів, що померли від соматичної патології) з встановленням частоти, локалізації, структури, статеві-вікового розподілу. Дисертанткою було проведено розподіл згідно патоморфологічного варіанту поліпозного ураження товстого кишечника.

Продемонстрована патогістологічна, гістохімічна та імуногістохімічна характеристика вперше діагностованих гіперпластичних поліпів. Наведені та проілюстровані основні патоморфологічні характеристики, які доцільно використовувати при прогнозуванні перебігу даних новоутворень.

Проведене імуногістохімічне дослідження проліферативної активності ентероцитів в безсимптомних поліпах продемонструвало різні індекси проліферативної активності (Ki-67) і співвідношення індексів Ki-67 для верхньої частини крипти і її основи. Автором встановлено співвідношення індексу проліферації для верхньої частини крипти і її основи та функціональною здатністю гіперпластичних поліпів – вони секретують значну кількість слизу, частіше локалізувалися в проксимальних відділах товстої кишки.

Дослідження мікросателітної нестабільності, як одного із шляхів малігнізації гіперпластичних поліпів, дозволило визначити наявність і в окремих випадках відсутність експресії білків MSH2, MSH6, PMS2 та MLH1.

Автор в цьому розділі показала, що не всі гіперпластичні поліпи можна відносити у групу ненеопластичних, що потребує детального морфологічного, в тому числі імуногістохімічного дослідження мікросателітної нестабільності як одного зі шляхів канцерогенезу товстої кишки.

В п'ятому розділі дисертації представлено особливості мікросателітної нестабільності і розподілу експресії білків системи MMR (mismatch repair) в аденоматозних поліпах товстої кишки з дисплазією високого та низького ступенів при їх безсимptomному перебігу і аденокарцином різного ступеня диференціації.

Встановлено, що мікросателітна нестабільність, яка виявлена в аденомах з дисплазією низького ступеня та аденокарциномі помірного ступеня диференціації (G2), визначає сприятливий перебіг захворювання.

Автором доведено, що колоректальні карциноми з мікросателітною нестабільністю високого рівня (MSI-H) є гетерогенною групою пухлин, вони демонструють певні чіткі біологічні відмінності в порівнянні з колоректальним раком зі стабільним або низьким рівнем мікросателітної нестабільності.

В розділі показано, що проліферативна активність є однією з кардинальних характеристик новоутворень, яка відображає швидкість росту пухлини, є об'єктивним критерієм диференціальної діагностики при дослідженні незміненої слизової оболонки, аденоми і раку товстої кишки.

При цьому важливе значення має не тільки абсолютне збільшення проліферуючих клітин у пухлині в порівнянні з нормальною тканиною, а й порушення топографії проліферативних ділянок.

В розділі було розглянуто функціональну здатність келихоподібних клітин в аденомах з дисплазією низького та високого ступеня. В аденомах з дисплазією високого ступеня - келихоподібні клітини практично зникають, натомість в аденомах з дисплазією низького ступеня в клітинах збережена продукція слизу.

Функціональної здатності келихоподібних клітин колоректального раку з мікросателітною нестабільністю та аденокарцином зі стабільністю mismatch репарації показало, що в помірно-диференційованій карциномі з мікросателітною нестабільністю високого ступеня присутні ознаки секреції муцину.

У шостому розділі наведено данні, щодо особливостей мікросателітної нестабільності і розподілу експресії білків системи MMR (mismatch repair) в поліпах товстої кишки та їх значення у розвитку колоректального раку на матеріалі проспективного дослідження.

Проведено дослідження показало, що ризик розвитку новоутворень значно підвищується при дефектах системи репарації неспарених основ (mismatch repair), яка «виправляє» помилки реплікації ДНК. В результаті таких помилок, втрати комплементарності ниток ДНК виникають петлі, які розпізнаються комплексами білків MSH2/MSH6 або MLH1.

В розділі **«Аналіз та обговорення отриманих результатів»** дисертанткою проведено аналіз отримані результати, порівняння їх з результатами інших досліджень, що віддзеркалює новизну отриманих автором даних та їх практичну значущість для патоморфологічної діагностики захворювань товстої кишки.

Представлені шість висновків дисертаційної роботи обґрунтовані, базуються на отриманих результатах, логічно завершують роботу та відповідають поставленій меті і завданням дослідження.

Завершують дисертацію три практичні рекомендації, які дозволяють підвищити якість прижиттєвої діагностики колоректального раку у пацієнтів з безсимптомним перебігом поліпозного ураження товстої кишки та розробити і впровадити рекомендації щодо прогнозування розвитку злоякісних трансформацій поліпів.

Дисертаційна робота написана грамотно, науковим стилем викладення матеріалу досліджень, положень, висновків і практичних рекомендацій. Всі розділи добре ілюстровані схемами, мікрофотографіями та таблицями.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення

Принципових зауважень до змісту, оформленню та стилю дисертаційної роботи та автореферату немає. Поряд з цим є окремі зауваження та побажання, а саме:

1. В тексті зустрічаються окремі стилістичні помилки, не дуже вдалі вислови.
2. Окремі рисунки не дуже хорошої якості, наприклад 3.15, 3.16, таблиці перевантажені, сприймають складно, наприклад таблиці 4.3.

Наведені зауваження не впливають на науковий рівень дисертаційної роботи та не зменшують її теоретичне та практичне значення.

У порядку дискусії хотілось би почути відповіді на наступні запитання:

1. Які гістохімічні методи доцільно застосовувати при первинному скринінгу пацієнтів?
2. Чи зустрічались в Вашому дослідженні зубчасті аденоми?

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці

Результати дисертаційної роботи Вариводи О.Ю. мають певне практичне значення і можуть використовуватися в практичній роботі патологоанатомів та при викладанні патоморфології студентам та слухачам кафедр патологічної анатомії навчальних закладів вищої освіти та післядипломної освіти, а також можуть бути застосовані в рутинній практиці лікарів ендоскопічної діагностики, проктологів та онкологів.

Заслуговують на впровадження в патологоанатомічних бюро, відділеннях, патологоанатомічних відділах та лабораторіях НДІ України запропоновані дисертантом метод імуногістохімічного визначення дефектів

білків системи MMR, задля можливості прогнозування малігнізації безсимптомних поліпів.

Нові теоретичні положення дисертаційної роботи використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної анатомії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету; кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету; у практичну діяльність Комунального закладу Львівської обласної ради «Львівське обласне патологоанатомічне бюро».

Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Вариводи Олени Юріївни на тему «Поліпозні захворювання товстої кишки: клініко-морфологічні особливості та прогнозування перебігу», на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія, є завершеною працею, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують конкретну наукову задачу з удосконалення патоморфологічної діагностики поліпів товстої кишки з визначенням оптимальних діагностичних морфологічних критеріїв прогнозування їх перебігу, які мають суттєве значення для патологічної анатомії та онкоморфології.

За актуальністю, сучасним методичним рівнем виконання, новизною і практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, їх достовірністю і повнотою викладу в опублікованих працях дисертаційна робота Вариводи Олени Юріївни на тему «Поліпозні захворювання товстої кишки: клініко-морфологічні особливості та прогнозування перебігу» повністю відповідає пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого

Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015, № 567 від 27.07.2016) стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Завідувач кафедри патологічної
та топографічної анатомії
Національної медичної академії
післядипломної освіти імені П. Л. Шупика
доктор медичних наук, професор

О.О. Дядик

