

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Вторушина Сергея Владимировича о диссертации Сетдиковой Галии Равиловны «Морфогенез и дифференциальная диагностика ампулярных и периапулярных карцином гепато-панкреатодуоденальной зоны», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Актуальность темы исследования.

Диссертационное исследование Сетдиковой Г.Р. посвящено изучению морфогенеза, морфологических и молекулярно-биологических особенностей ампулярных и периапулярных карцином гепато-панкреатодуоденальной зоны.

На сегодняшний день общепризнанно, что успехи современной онкологии в значительной степени базируются на молекулярно-биологических технологиях, с учетом индивидуальных биологических особенностей и морфологического строения опухоли.

Несмотря на достигнутые результаты в лечении онкологических заболеваний, в том числе и злокачественных новообразований гепато-панкреатодуоденальной зоны, существует ряд актуальных проблем, связанных, прежде всего с поздней диагностикой заболевания и выявлением его уже на III или IV стадии болезни, развитием рецидива опухоли и возникновением опухолевой прогрессии даже после проведенного радикального лечения. Совокупность данных факторов обуславливает низкие показатели пятилетней выживаемости в указанной категории онкологических пациентов.

Особенностью карцином гепато-панкреатодуоденальной зоны, наряду с трудностями клинической и лучевой диагностики являются сложности морфологической дифференциальной диагностики карцином. Указанные проблемы обусловлены с одной стороны «подменой» дефиниций и отсутствием единообразного подхода к классификации ампулярных карцином, с другой стороны трудоемкостью исследования операционного материала, схожестью гистологической структуры ряда опухолей, иногда перекрестным

иммунофенотипом опухолевых клеток, обусловленных, в том числе недостаточно изученным и сложным морфогенезом карцином данной локализации.

Исследование фундаментальных аспектов морфогенеза ампулярной карциномы крайне важны не только для гистологической диагностики, но и для прогнозирования течения заболевания, а также выбора наиболее эффективной схемы химиотерапии в адъювантном режиме.

Лидирующим гистологическим типом опухолей данной анатомической области является протоковая карцинома поджелудочной железы, характеризующая агрессивным клиническим течением, плохим прогнозом заболевания. В основе данных свойств лежат сложные молекулярные механизмы, связанные с изменениями метаболизма клеток, направленных в первую очередь изменение цитоскелета, появлением «локомоторного фенотипа», усилением инвазивных свойств и метастатического потенциала в рамках эпителиально-мезенхимального перехода. Изучение данных механизмов в процессе опухолевого роста при протоковой карциноме поджелудочной железы имеет фундаментальное значение в понимании опухолевой прогрессии, но и обуславливает прогноз течения заболевания и отдаленные результаты лечения.

Указанные нерешенные вопросы обосновывают актуальность выбранной темы настоящего исследования.

Оценка научной новизны и ценности полученных результатов.

Автором впервые показаны достоверные различия между фенотипом ампулярных и периапулярных карцином по наличию aberrаций гена MYC. Установлено, что aberrации данного гена характерны только для периапулярных карцином с панкреато-билиарным иммунофенотипом, характеризующиеся худшим прогнозом заболевания.

Важным в исследовании было обнаружение различий истинного кишечного иммунофенотипа при ампулярной карциноме и «неполной»

кишечной метаплазии при протоковой аденокарциноме, что связано с локализацией данных новообразований, и позволяет осуществить персонализированный подход к лечению больных ампулярными карциномами и протоковым раком поджелудочной железы.

Впервые была показана биологическая значимость анапластического компонента при протоковой карциноме поджелудочной железы проявляющаяся изменением молекулярного профиля опухолевых клеток в процессе эпителиального-мезенхимального перехода и подтверждающая биологическую гетерогенность опухоли. Клетки анапластического компонента, в отличие от железистых опухолевых структур протоковой аденокарциномы поджелудочной железы, диффузно экспрессируют виментин, p63, гладко-мышечный актин и очагово - цитокератин 7.

В результате проведенного диссертационного исследования впервые разработаны дифференциально-диагностические критерии псевдотуморозного хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы при изучении толсто-игольных биоптатов. С использованием множественного регрессионного анализа выявлено, что достоверными признаками дифференциальной - диагностики хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы являются: архитектура, форма желез, упорядоченность стромального компонента и наличие фигур митоза.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

Научные положения и выводы диссертационного исследования обосновываются на достаточном клиническом материале с применением адекватных и современных патоморфологических, иммуноморфологических и молекулярных методов исследования. Методические приемы, примененные автором в исследовании, современны, а их комплекс полностью соответствует поставленным в работе задачам.

Для статистической обработки данных, полученных автором, был использован современный пакет прикладных программ, которые позволяют аргументировать достоверность положений и выводов диссертации.

Результаты проведенного исследования документированы в таблицах и хорошо иллюстрированы в рисунках, фотографиях, представленных в работе.

Цель диссертационного исследования полностью отражает суть проведенных исследований, задачи соответствуют поставленной цели, выводы логично вытекают из полученных результатов и полностью отражают их содержание.

Полученные результаты исследования апробированы и доложены на конференциях различного уровня, что является итогом длительного изучения и личного вклада автора в разработку научной темы. Это обусловлено глубоким анализом теоретико-методологических достижений исследователей, занимавшихся этой проблемой, достаточной базой данных, использованием оригинальных подходов изучения биологической агрессивности опухоли, обстоятельным и критическим обоснованием полученных данных и адекватным статистическим анализом.

Таким образом, научные положения и выводы диссертации аргументированы и достоверны, наиболее важная часть, которых внедрена в практические рекомендации – в работу патологоанатомических отделений медицинских учреждений муниципального и федерального уровня. Автором получено 2 патента РФ на изобретения.

Научно-практическая значимость.

Все выводы и положения, сформулированные автором на основании результатов исследования, представляют собой новый вклад в понимание морфогенеза ампулярных и периапулярных карцином, обосновывают необходимость выделения опухолей с анапластическим компонентом в отдельную группу, что позволит персонализировать подход при оценке прогноза и планировании лечения данной категории пациентов.

Обнаруженные в результате исследования проявления эпителиально-мезенхимального перехода у больных с протоковой карциномой поджелудочной железы имеют не только фундаментальное значение в понимании механизмов канцерогенеза и опухолевой прогрессии, но и могут стать основой для поиска таргетных молекул, в том числе направленных на стромальные элементы опухоли и ее микроокружение.

Диссертация Г.Р. Сетдиковой является фундаментальным исследованием, результаты которого вносят значимый вклад в решение ряда актуальных проблем патоморфологии и поднимают на новый качественный уровень знания тех ее разделов, которые занимаются изучением механизмов роста, инвазии, морфогенеза и прогрессии карцином панкреатодуоденального региона.

Практическая значимость диссертации заключается в разработанном протоколе детального морфологического исследования операционного материала резецированного гастро-панкреатодуоденального комплекса при злокачественных опухолях протоковой системы поджелудочной железы, повышающем диагностическую точность, что имеет существенное значение для правильного стадирования онкологического заболевания, оценки резектабельности опухоли и выборе наиболее оптимального лечения.

Личный вклад автора.

Соискатель лично планировал исследование, проводил разработку идеи научно-исследовательской работы, анализ литературных источников по данной проблеме, сформулировал цель и задачи. Самостоятельно выбрал методы исследования. По полученным результатам сформулировал научные положения и практические рекомендации и подготовил публикации.

Оценка содержания работы.

Диссертационная работа выполнена в традиционном стиле, изложена на 219 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов

собственных исследований и их обсуждений, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 153 рисунками, содержит 22 таблицы. Список литературы включает 226 источников, из них 44 – отечественных и 182 – иностранных авторов.

Во введении Г.Р. Сетдикова обосновывает актуальность проводимого исследования, определяет цель работы и формулирует 6 задач, научную новизну и научно-практическую значимость работы. Поставленные задачи соответствуют цели исследования.

В главе обзора литературы диссертантом продемонстрирован глубокий анализ классических и новейших представлений по исследуемой проблеме медицинской науки. В обзоре детально отражены вопросы эмбриогенеза, нормальной и вариативной анатомии панкреато-дуоденального региона. С позиции современной концепции интраэпителиальных неоплазий представлены сведения о предопухолевых состояниях поджелудочной железы, даны их морфологические характеристики.

В обзоре широко представлены детальные клинико-морфологические характеристики, возможности и проблемы диагностики опухолей панкреатодуоденальной зоны на современном этапе.

В заключении обзора автор обозначил необходимость комплексного исследования, включающего изучение морфогенеза, гистологических, иммунофенотипических, молекулярных характеристик неоплазий, приемлемого для использования в практике с целью персонализированного подхода в диагностике и лечении пациентов с опухолями панкреатодуоденальной зоны.

Глава «Материал и методы» представляет структуру и объем выполненных исследований. В исследование был включен операционный материал от 177 пациентов и 14 эмбрионов человека (аутопсийный материал).

Методические приемы, использованные в работе современны и адекватны поставленным задачам: автор использовал как традиционные морфологические методы с макро- и микроскопическим описанием исследуемого материала, так и иммуногистохимический метод, флуоресцентную гибридизацию *in situ*

(FISH-метод). Электронная микроскопия была использована для ультраструктурной оценки протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и случаев с хроническим панкреатитом.

Проведенное автором исследование неоплазий состояло из нескольких этапов. Первый этап включал анализ клинических данных, результатов компьютерной томографии и других инструментальных методов обследования с оценкой характера роста новообразования детальным морфологическим исследованием по разработанному автором алгоритму исследования.

Вторым этапом было проведено изучение иммуногистохимических характеристик образцов. Иммуногистохимическое окрашивание полученных срезов производилось стрептавидин-биотиновым методом. Оценка экспрессии антигенов (MUC 1, MUC 2, MUC 5AC, цитокератины 7,20, Ki-67 Е-кадгерин, гладкомышечный актин) произведена на парафиновых срезах полуколичественным методом с учетом интенсивности и характера окрашивания.

Следует отметить высокое качество иллюстративного материала. Таблицы, фотоснимки, являются оптимальными в количественном отношении, они достаточно полно отражают характер изученного материала и в полной мере показывают весь перечень изученных параметров.

Результаты исследования разделены на 3 подглавы. В подглаве 3.1. «Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика опухолей протоковой системы поджелудочной железы» представлена детальная клиническая, морфологическая, иммуногистохимическая характеристика всех случаев неоплазий, включенных в исследование. Показано, что гистологический тип ампулярных карцином необходимо определять на основании ИГХ-исследования экспрессии муцинов 1, 2 и 5AC типов. Отсутствие аббераций гена MUC и «истинного» панкреато-билиарного типа, подтверждает менее агрессивную биологическую природу ампулярных карцином по сравнению с протоковым раком поджелудочной железы.

В подглаве 3.2. приведена дифференциальная диагностика опухолей протоковой системы поджелудочной железы. Особый интерес представляют результаты исследования протоковой аденокарциномы. В 19,0% (19/100) случаев в классическом гистологическом варианте протоковой аденокарциномы в опухоли наряду с железистыми структурами обнаружен анапластический компонент, который был весьма вариабелен и составлял от 5 до 20% общей массы опухоли. Автором достоверно показано, что наличие данного компонента в протоковой карциноме сопряжено с плохим прогнозом заболевания, что вероятнее всего обусловлено эпителиально-мезенхимальным переходом опухолевых клеток, проявляющегося на иммуноморфологическом уровне. Так, выявлено, что в анапластическом компоненте во всех случаях отмечена отрицательная как мембранная, так и цитоплазматическая экспрессия белка Е-кадгерина, выраженная положительная реакция с гладкомышечным актином, виментином. Также в ядрах анапластических клеток отмечена положительная реакция с маркером базальных стволовых клеток р63.

Сравнительное исследование хронического панкреатита и протоковой карциномы позволило выявить морфологические, иммуногистохимические отличия как стромальных, так и эпителиальных компонентов, проявляющиеся в гисторахитектонике и цитологических характеристиках клеток, характере фиброза, выраженности экспрессии коллагенов I, III и IV типов.

Проведенный автором анализ эмбрионального развития поджелудочной железы позволил объяснить механизм появления кишечного иммунофенотипа в протоковой аденокарциноме. При этом несмотря на то, что опухоли имеют двойственный иммунофенотип (кишечный и панкреатобилиарные типы), ампулярные карциномы и протоковая аденокарциномы различаются по биологическому потенциалу, и вероятно, должны учитываться при выборе схемы адъювантной химиотерапии.

В заключении главы собственных исследований Г.Р. Сетдикова приводит обоснование и подробное описание диссекции органокомплекса при неопластических процессах панкреатодуоденальной зоны. Детально отражена

последовательность проведения макроскопического исследования, с учетом особенностей различных типов неоплазий протоковой системы и поджелудочной железы, с изучением регионарных лимфатических коллекторов, а также рекомендациями по корректной оценке размера первичной опухоли (критерий pT), столь важной для правильного стадирования заболевания.

Полученные в исследовании факты обсуждаются в 4 главе. В ходе изложения материала автор сравнительно анализирует изученные гистологические и молекулярные морфологические показатели в каждой из групп пациентов с различными типами неоплазий, выделяя и обосновывая признаки, имеющие наибольшее диагностическое значение для каждой из групп. Соискатель проанализировал полученные результаты, используя данные научной литературы с позиций современных представлений о канцерогенезе и механизмах опухолевой прогрессии при злокачественных эпителиальных опухолях панкреатодуоденальной зоны.

Сравнительное исследование показало, что двойственный иммунофенотип характерен как для ампулярной карциномы, так и для периапулярных карцином. Данное исследование еще раз подтверждает, что в практике необходимо обязательно определять иммунофенотип опухоли при морфологическом исследовании ампулярных карцином на основании экспрессии различных типов муцинов.

При сравнении панкреатобилиарного типа ампулярной карциномы и периапулярных карцином автором были выявлены молекулярно-генетические различия. Так, отсутствие аббераций гена MYC и «истинного» панкреатобилиарного типа (экспрессия муцина 1 типа всегда сочеталась с экспрессией муцина 5 AC типа), подтверждает менее агрессивную биологическую природу ампулярных карцином по сравнению с периапулярными карциномами, в частности с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы.

В настоящее время в связи с развитием эндоскопических сонографических методов диагностики на дооперационном этапе крайне важным является вопрос

о дифференциальной диагностике между псевдотуморозным хроническим панкреатитом и протоковым раком поджелудочной железы. Проведенное комплексное исследование позволило диссертанту выделить наиболее значимые клинко-морфологические критерии дифференциальной диагностики выше указанных нозологических форм и рекомендовать для дальнейшего их использования при гистологическом исследовании толсто-игольных биопсий (core-biopsy) и/или криостатных срезов в практической деятельности патологоанатомических отделений.

На сегодняшний день достаточно большое число научных работ при злокачественных новообразованиях посвящено исследованию эпителиально-стромальных взаимоотношений и опухолевого микроокружения. Поскольку данные компоненты опухоли играют не только важную роль в прогрессии эпителиальных опухолей, но могут стать потенциальной мишенью для лекарственного воздействия. Несмотря на существенный прогресс в хирургическом методе лечения протоковой аденокарциномы, отдаленные результаты остаются неутешительными. Одной из причин низких результатов комплексного лечения, по мнению автора, могут быть десмопластическая реакция стромы и морфологическая гетерогенность самой опухоли, проявляющаяся наличием анапластического компонента. Результаты исследования иммунопрофиля протоковой карциномы показали интересные данные, свидетельствующие о том, что в процессе потери дифференцировки опухолевые клетки приобретают миоэпителиальный и/или мезенхимальный фенотип. Полученные данные, с одной стороны, имеют важное фундаментальное значение в понимании механизмов опухолевой прогрессии, одним из ключевых этапов которой является эпителиально-мезенхимальный переход, с другой стороны имеют важное значение в оценке прогноза заболевания у данной категории онкологических больных.

Автором убедительно доказана и обоснована важность макроскопического этапа в дифференциальной диагностике новообразований данной локализации, что в совокупности с последующим морфологическим

исследованием увеличивает диагностическую точность используемых методов. Приведенные в данной работе клинические случаи, подтверждают необходимость проведения комплексного исследования.

Диссертация написана литературным языком, ее материалы изложены доходчиво и грамотно.

Выводы диссертации логически вытекают из существа проведенных исследований, они соответствуют полученным в работе результатам. Рецензируемая работа является завершенным исследованием, круг поставленных в ней задач успешно решен автором. Диссертационное исследование соответствует заявленной специальности.

Основные положения диссертации изложены в 41 печатной работе, при этом 21 из них отражены в изданиях, входящих в перечень РФ рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией. Автореферат полностью отражает содержание работы.

По диссертации в порядке дискуссии к Г.Р. Сетдиковой возникли следующие вопросы:

1. Как известно, одной из ключевых молекул при эпителиально-мезенхимальном переходе является TGF-beta, который в процессе морфогенеза злокачественной опухоли потенцирует десмопластическую реакцию и оказывает влияние на миофибробластические клетки стромы опухоли. Данный пептид не был включён в иммуногистохимическую панель при исследовании, однако, каково его патогенетическое и прогностическое значение в рамках полученных Вами данных при протоковых карциномах поджелудочной железы?

2. При оценке лимфогенного метастазирования в операционном материале Вами предложены три типа распространения протоковой аденокарциномы: прямой, локорегионарный и смешанный. Имелись ли какие-либо отличия в типе распространения опухоли и количестве пораженных метастазами лимфатических узлов в зависимости от морфологических

характеристик опухоли, степени дифференцировки и наличия или отсутствия анапластического компонента опухоли?

3. Чем возможно объяснить с позиций современных патогенетических представлений об опухолевом росте различные варианты местного распространения протоковой карциномы учитывая тот факт, что локальная распространённость карциномы не была существенно сопряжена с размером первичной опухоли?

4. Какие схемы химиотерапии были использованы в адъювантном режиме для лечения пациентов с протоковой аденокарциномой и ампулярной карциномой? Учитывался данный параметр при анализе и оказывал ли статистическое влияние на соотношение 1-летней и 5-летней выживаемости в указанных группах пациентов?

5. При сравнении характеристик железистого компонента случаев с протоковой аденокарциномой и хронического панкреатита Вами показаны отличия в экспрессии белка p16 и метастина. Однако указанные критерии не включены в практические рекомендации в качестве диагностических при проведении дооперационной диагностики данных нозологий.

Принципиальных замечаний по представленной диссертационной работе нет.

Заключение

Диссертация Г.Р. Сетдиковой «Морфогенез и дифференциальная диагностика ампулярных и периапулярных карцином гепато-панкреатодуоденальной зоны» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические и практические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое крупное научное достижение в области патологической анатомии, а именно тех разделов, которые изучают закономерности роста и инвазии карцином панкреатодуоденальной области. Результаты исследования имеют важное теоретическое и практическое

значение для патологической анатомии, а также онкологии и лучевой диагностики.

По актуальности, новизне, научному и методическому уровню, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Галии Равиленовны Сетдиковой соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842 в редакции от 28.08.2017 г. №1024.), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия, а сам автор заслуживает присвоения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Официальный оппонент,
профессор кафедры патологической анатомии
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук по специальностям 14.01.12 – онкология,
14.03.02 – патологическая анатомия, доцент.
Заведующий патологоанатомическим отделением клиник.

С.В. Вторушин

«26» февраля 2019 г.



Данные об авторе отзыва: Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук по специальностям 14.01.12 – онкология, 14.03.02 – патологическая анатомия, доцент, профессор кафедры патологической анатомии, заведующий патологоанатомическим отделением клиник Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

634050, г. Томск, Московский тракт, 2, тел. 8 (3822) 533-309, e-mail: office@ssmu.ru