ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента Лядова Владимира Константиновича на диссертационную работу Захаренко Маргариты Владимировны «Молекулярно-генетические исследования в оптимизации диагностики колоректального рака», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. – Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы диссертации

Работа Захаренко М.В. посвящена одной из наиболее актуальных тем современной онкологии – ранней диагностике и разработке программ скрининга опухолевых заболеваний толстой кишки.

Колоректальный рак занимает второе место по смертности от злокачественных новообразований среди мужчин и женщин в большинстве стран, в том числе и в России. Чаще всего злокачественные опухоли кишечника развиваются из аденом толстой кишки, в отдельных случаях у пациентов с генетически детерминированными синдромами полипоза или воспалительными заболеваниями кишки. В настоящее время в ряде стран мира уже накоплен успешный опыт проведения программ раннего выявления рака толстой кишки, показана эффективность выявления предраковых состояний и начальных стадий заболевания, а ожидаемый уровень снижения смертности составляет 25-30%. Однако также показано, что скрининг колоректального рака – это сложное мероприятие, требующее определенных усилий от пациентов (сбор образцов кала для определения в них скрытой крови, подготовка к проведению колоноскопии и др.), включающее применение седативных препаратов и требующее наличия дополнительного оборудования для проведения исследований (колоноскопия). Для того, чтобы вся программа скрининга оказалась успешной, должен произойти последовательный ряд событий, обеспеченных финансово и технически. Если хотя бы одно из условий не соблюдено или будет выполнено на

недостаточно квалифицированном уровне, эффективность программы скрининга окажется сниженной. В этой связи поиск новых методов ранней диагностики и возможностей внедрения инновационных вариантов программ скрининга колоректального рака является чрезвычайно важной клинической задачей.

В настоящее время внедрение молекулярно-генетических технологий в клиническую практику и большое количество исследований, посвященных фенотипическим особенностям опухолей и их микроокружения, позволяют задуматься о разработке новых диагностических программ.

Накоплено большое число данных о влиянии опухоли на окружающие ткани и на организм в целом. Так, в лабораторной практике по сыворотке крови определяется большой спектр опухолевых маркеров, исследуются циркулирующие нуклеиновые кислоты, несущие информацию о молекулярном статусе опухоли. Однако эти методы основаны на анализе опухолевых продуктов. Дифференциальная диагностика патологического процесса на основе анализа интактных, отдаленных от очага поражения тканей, и их фенотипических особенностей – несомненно, новое и актуальное направление.

Автором диссертационной работы показано, что морфологически неизмененная ткань толстой кишки, при различных патологических состояниях имеет ряд эпигенетических особенностей. В работе Захаренко М.В. проведено фундаментальное исследование тканей толстой кишки при различных патологических процессах. Полученные данные позволили доказать, что молекулярные изменения, обнаруженные в неизмененных тканях кишечника, достоверно отличаются в зависимости от типа патологического процесса и определяются в отдаленных от зоны поражения участках. Результаты исследования могут быть использованы при выработке диагностического алгоритма для пациентов с заболеваниями толстой кишки.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе представлены результаты научного исследования молекулярно-генетических характеристик неизмененных тканей толстой кишки при колоректальном раке, полипозе и воспалительных заболеваниях. Достаточная статистическая выборка и грамотная статистическая обработка результатов позволили автору сделать ценные выводы с точки зрения как практической медицины, так и фундаментальной науки. Обоснованность научных результатов, выводов и рекомендаций, представленных в диссертации, подтверждена правильно спланированным дизайном исследования, большой выборкой пациентов и адекватно проведенным статистическим анализом полученных результатов. Автором проведен анализ 926 образцов тканей толстой кишки. Количество образцов в опытных и контрольной группах достаточно для проведения статистической обработки и получения достоверных результатов. Выбранный автором дизайн исследования логичен и направлен на решение поставленных задач. Статистическая обработка полученных результатов детальная, выбор методов анализа свидетельствует о понимании автором основных принципов статистического анализа медицинских данных.

Проведенное Захаренко М.В. исследование молекулярных фенотипов в зависимости от анатомического отдела и клинико-морфологических данных для нормальной ткани толстой кишки здоровых лиц является новаторским. В современной литературе имеются единичные зарубежные публикации, посвященные данной тематике. Это обусловлено трудностями получения биологического материала и подбора соответствующих групп. Однако рядом крупных исследовательских центров проводятся исследования данной проблемы.

Автором впервые установлено, что в морфологически неизмененной ткани толстой кишки при различных патологических процессах на

достаточном отдалении от очага поражения (в других отделах толстой кишки) наблюдаются эпигенетические изменения, характерные для данного типа поражения. Полученные автором результаты действительно могут послужить основой нового молекулярно-генетического метода дифференциальной диагностики патологических процессов толстой кишки. Это определяет практическую значимость исследования и полученных результатов.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Диссертационное исследование, несомненно, обладает научной новизной. В работе впервые в мире проведен анализ эпигенетических изменений слизистой оболочки различных отделов толстой кишки, определены фенотипы неизмененной слизистой толстой кишки у здоровых лиц и при различных патологических процессах. Показаны достоверные статистические отличия экспрессии исследуемых генов в норме и при патологии в толстой кишке. Впервые установлено, что фенотипический профиль материала соскоба тканей прямой кишки с высокой чувствительностью и специфичностью отражает патологические изменения в органе.

В исследовании использовались молекулярно-генетические методы анализа уровня экспрессии 62 функциональных генов, ответственных за основные процессы клеточного гомеостаза тканей толстой кишки.

Научная новизна определяется тем, что в диссертации установлено, что в морфологически неизмененной ткани при различных патологических процессах на достаточном отдалении от очага поражения (в других отделах толстой кишки) наблюдаются молекулярно-генетические изменения, характерные для данного типа поражения. Показано, что при развитии патологического процесса, особенно колоректального рака, фенотипы даже отдаленных от очага отделов изменяются, т.е. подтверждено влияние опухоли на формирование фенотипов слизистой оболочки отдаленных от очага поражения отделов толстой кишки при колоректальном раке.

Проведенное диссертационное исследование имеет четкую, логичную структуру. Изложены как литературные данные по исследованной проблеме, так и результаты собственного исследования. Выводы соответствуют цели и задачам исследования и отражают основные положения работы.

Ценность работы для науки и практического здравоохранения

Показано, что анализ экспрессионных профилей морфологически неизмененных тканей слизистой толстой кишки может являться основой для создания нового метода дифференциальной диагностики патологических процессов. Определена достаточная панель генов, позволяющая с высокой вероятностью дифференцировать экспрессионный профиль нормальной слизистой оболочки прямой кишки при колоректальном раке, полипозе и воспалительных изменениях. Автором предложена модель ранней диагностики колоректального рака, включающая 16 молекулярных маркеров и позволяющая с чувствительностью 86,3% и специфичностью 100% выявлять злокачественные новообразования толстой кишки.

Цель работы сформулирована четко. Она отражает не только фундаментальную составляющую исследования, но и клиническую значимость данной работы.

Задачи исследования выстроены логично. Начиная с первой задачи, ясна логика работы. Отражена последовательность проведенного исследования: оценка и последующий анализ молекулярных фенотипов различных отделов ТК, интеграция результатов с клинико-морфологическими данными и формирование возможного алгоритма применения молекулярно-генетического исследования в диагностике патологических процессов ТК

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению диссертации

Диссертация состоит из введения, трёх глав (обзор литературы, методы исследования, результаты собственных исследований), заключения, выводов, списка сокращений и списка использованной литературы. Текст диссертации

изложен на 146 страницах машинописного текста, иллюстрирован 31 таблицей и 9 рисунками. Библиографический указатель включает 164 источника: из них 22 русскоязычных, 142 зарубежных.

Цель работы сформулирована четко и отражает не только фундаментальную составляющую исследования, но и клиническую значимость данной работы.

Задачи исследования выстроены логично. Отражена последовательность проведенного исследования: оценка и последующий анализ молекулярных фенотипов различных отделов ТК, интеграция результатов с клинико-морфологическими данными и формирование возможного алгоритма применения разработанного диагностического теста.

Во введении автор освещает актуальность проблемы, опираясь на данные отечественной и зарубежной литературы, описывает теоретическую концепцию исследования.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором представлены современные данные о молекулярных механизмах, ответственных за нормальное функционирование (гомеостаз) тканей толстой кишки, механизмы регуляции клеточного обновления и роль микробиоты в патогенезе колоректального рака. Подробно освещены существующие методы диагностики заболеваний толстой кишки, приведен анализ проблем и достоинств данных методов. Особое место отведено роли молекулярных методов в клинической диагностике. Отдельный раздел посвящен исследованиям морфологически неизмененных тканей при злокачественных опухолях различных локализаций. Обсуждается возможность использования фенотипических особенностей неизмененной ткани толстой кишки в качестве биомаркеров при различных патологических процессах.

В разделе 1.4 обзора «Методы диагностики заболеваний толстой кишки. Роль и место методов молекулярной диагностики в колопроктологии» автор достаточно детально освещает особенности лабораторной и, в частности, молекулярной диагностики при заболеваниях

толстой кишки. Однако четкое описание существующих программ скрининга могло быть сделать этот раздел более акцентированным.

В целом, обзор литературы написан подробно, отражает современные представления о молекулярных изменениях, происходящих в тканях при развитии патологического процесса в толстой кишке, а также о методах диагностики этих процессов, обосновывает необходимость проведения исследования.

Во второй главе описаны материалы и методы исследований, приведены описания образцов и групп пациентов, методологические особенности получения материала, подробно описан дизайн исследования. Материал, использованный автором, в количественном и качественном отношении достаточен для кандидатской диссертации и соответствует цели и задачам исследования.

В главе детально представлены молекулярные методы, используемые в работе. Описан процесс формирования групп пациентов, особенности забора и подготовки морфологического материала для молекулярно-генетического исследования. Статистические методы, использованные в работе, достаточно разнообразны, отмечается корректность использования методов статистики для решения различных задач. Большой объем выборки, правильность формирования групп, дизайна исследования и методов статистической обработки позволили автору получить статистически значимые репрезентативные результаты.

Раздел написан подробно, современным научным языком изложены основные принципы молекулярных и статистических методов, используемых в работе.

В третьей главе приведены результаты собственных исследований по анализу молекулярных изменений в тканях толстой кишки при исследованных патологических состояниях. Глава иллюстрирована достаточным количеством таблиц.

По результатам анализа экспрессии генов были выявлены статистически значимые отличия между анатомическими отделами толстой кишки у здоровых лиц, изучены отличия неизмененных участков слизистой оболочки кишечника при исследуемых патологических процессах, показана возможность использования материала соскоба прямой кишки для молекулярно-генетических исследований. Автором оценена возможность использования экспрессионного фенотипа для диагностики патологического процесса в толстой кишке, показано, что с практической точки зрения наибольший интерес представляют молекулярные изменения в прямой кишке, так как она является наиболее доступным отделом для забора биологического материала.

Полученные результаты экспрессионного профиля позволили автору провести стратификацию пациентов с высокой чувствительностью и специфичностью.

Проведенный Захаренко М.В. анализ молекулярных фенотипов соскобов из прямой кишки показал, что группа здоровых лиц определяется с точностью 95% - 100%. Высокая точность (98,4%) показана при дифференциальной диагностике доброкачественных процессов и рака толстой кишки. Автором предложены 2 диагностические панели молекулярных маркеров: для скрининга колоректального рака 16 генов, для дифференциальной диагностики патологических процессов 31 ген. В главе 3.3. описан алгоритм применения предложенной модели на основе изменения экспрессии мРНК в клеточном материале соскобов из прямой кишки.

В **заключении** Захаренко М.В. выделены ключевые результаты работы и отражена их клиническая значимость, проведен анализ полученных результатов и их соответствие целям и задачам исследования. Сделанные автором выводы обоснованы и соответствуют задачам диссертационной работы.

Принципиальных замечаний к выполненной работе, оформлению текста диссертации нет.

Автореферат и опубликованные по данной теме научные работы отражают основные положения диссертации. Результаты и основные положения исследования опубликованы в 10 статьях в рецензируемых изданиях, рекомендованных перечнем ВАК при Минобрнауки России.

Заключение

Диссертационная работа Захаренко Маргариты Владимировны на тему: «Молекулярно-генетические исследования в оптимизации диагностики колоректального рака», является логичным, законченным, самостоятельным исследованием, в котором содержится решение актуальной задачи – разработка нового метода дифференциальной диагностики и скрининга колоректального рака на основе определения эпигенетических особенностей тканей толстой кишки в норме и при патологии, что имеет существенное значение для онкологии. По актуальности решаемых задач, новизне, теоретическому и практическому значению полученных результатов диссертационная работа Захаренко Маргариты Владимировны соответствует всем требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Захаренко М.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6 – онкология, лучевая терапия.

Официальный оппонент:

доцент кафедры онкологии и паллиативой медицины
имени академика А.И. Савицкого ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России,
доктор медицинских наук Лядов Владимир Константинович

Даю согласие на сбор, обработку, хранение и передачу персональных данных в диссертационный совет 21.1.032.01 (Д 001.017.01) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и обработку моих персональных данных.

доктор медицинских наук Лядов Владимир Константинович

Подпись доцента, доктора медицинских наук Лядова В.К. «Заверяю»

Ученый секретарь
Доктор медицинских наук, профессор Чеботарева Татьяна Александровна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Адрес: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1; E-mail: rmapo@rmapo.ru. Телефон: +7 (495) 680-05-99