

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Плахотникова Ивана Александровича на тему «Патогенетические механизмы формирования осложненных и резистентных форм язвенного колита и методы их коррекции», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность темы исследования

Актуальность темы диссертационного исследования Плахотникова И.А. определяется несколькими важными позициями. Во-первых, язвенный колит является одним из наиболее частых хронических, прогрессирующих, неонкологических заболеваний пищеварительной системы. Во-вторых, язвенный колит по-прежнему остается инвалидизирующим заболеванием. В-третьих, патогенез язвенного колита сложный, до конца не изученный. Считается, что язвенный колит является результатом воздействия комплекса факторов, которые у людей с генетической предрасположенностью вызывают нарушения регуляторных механизмов, сдерживающих иммунные/аутоиммунные реакции в ответ на физиологические кишечные микроорганизмы. В-четвертых, несмотря на активное применение в широкой колопроктологической практике современных методов патогенетического лечения (системные и топические глюкокортикоидные гормоны (ГКГ), иммунодепрессанты, ингибиторы туморнекротического фактора, производные 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК)), проблема колита приобрела новые особенности, одной из которых является формирование осложненных и резистентных форм заболевания. В-четвертых, инвазивные методы лечения авторитетными исследователями признаются все чаще в качестве «хирургии отчаяния».

Сегодня принято считать, что патогенез данного заболевания имеет сложную, многокомпонентную и многоуровневую структуру. В

представленном контексте тема исследования является, безусловно, актуальным для современной патологической физиологии, гастроэнтерологии и колопроктологии, поскольку посвящена изучению не только отдельных патогенетических механизмов формирования и хронизации язвенного колита, но и вопросам оптимизации лечения в условиях развития осложненных и резистентных форм заболевания. Такой системный и всеобъемлющий методологический подход позволил диссертанту предложить использовать в комплексной патогенетически обоснованной терапии как интракишечных импрегнаций озона, так и сеансов интервальной нормобарической гипокситерапии (ИНБГТ), как компонентов универсальных немедикаментозных направлений коррекции синтропических механизмов формирования резистентности.

Степень обоснованности научных положений, выводов

и рекомендаций

Автором сформулирована глобальная цель исследования. На основании изучения комплекса базовых патогенетических механизмов, предикторов неоплазии, лабораторных методов диагностики и морфологических признаков малигнизации толстой кишки выяснить частоту, изучить механизмы и причины, установить особенности клинических проявлений, проанализировать эффективность вариантов лечебной тактики и оценить отдаленный прогноз и качество жизни у больных осложненными и резистентными формами язвенного колита.

Для достижения цели исследования поставлены 14 конкретных задач, для решения которых диссертантом использован комплексный набор исследований, среди которых морфологические, клинические, инструментальные, лабораторные, прогностические, социологические и статистические.

Научные положения, изложенные в диссертационном исследовании, являются полностью обоснованными, поскольку базируются на материалах многогранного исследования больных осложнёнными и

резистентными формами язвенного колита. Из 742 больных язвенным колитом, для дальнейшего проспективного исследования отобрано 174 (23,5%) осложненных и резистентных случаев заболевания. Автором разработаны четкие критерии отбора для включения больных в исследование. Ими стали наличие клинических, эндоскопических и морфологических (биопсийных) критериев левостороннего или дистального колита, хроническое или рецидивирующее течение заболевания, медикаментозная резистентность к одному или нескольким базисным классам противоязвенного лечения (системные и/или топические ГКГ, 5-АСК, иммунодепрессанты или ингибиторы фактора некроза опухоли альфа), немедикаментозные причины резистентности, среднетяжелое (2 степень активность по Schroeder/6-10 баллов по индексу Мейо) или тяжелое (3 степень активность по Schroeder/11-12 баллов по индексу Мейо) течение заболевания. Также, соискателем сформулированы исключающие критерии.

Рандомизация в группы наблюдения проведена на основании показателей секреторного муцина 5-го типа (mUC 5 AC), а также в зависимости от метода лечения. Всем участникам проекта в процессе эндоскопического исследования толстой кишки выполняли биопсию слизистой оболочки из нескольких мест слизистой (пораженных и визуально непораженных) и при помощи иммуногистохимического исследования определяли титр антител к mUC 5 AC. Дополнительно гистологические препараты окрашивали гематоксилин-эозином, исследовали их в условиях светооптической микроскопии и изучали пролиферативную активность клеток. Риск малигнизации определяли при 60-100% иммуноокрашивания mUC 5 AC и наличии высокого индекса пролиферативной активности в эпителии слизистой оболочки толстой кишки. Таких пациентов относили к категории высокого риска трансформации колита в рак. При низком риске интраэпителиальной неоплазии частота иммуноокрашивания mUC 5 AC и индекс пролиферативной активности колебался от 20 до 59%. У больных с высоким риском малигнизации (1-я группа наблюдения) по результатам

иммуногистохимической реакции mUC 5 AC и/или наличии гистологических признаков малигнизации/пролиферации в биоптате кишки, выполняли «расширенный» оперативный комплекс, предусмотренный современными рекомендациями по лечению колоректального рака. Второй группе наблюдения с низким риском малигнизации и при наличии показаний, выполняли обычное хирургическое пособие с последующим началом стандартного противоязвенного лечения с учетом предшествующей медикаментозной/немедикаментозной неэффективности. Методом случайной выборки больные с низким риском малигнизации были распределены в 3 однотипные группы наблюдения. Пациентам 3-ей группы проводили только комбинированное медикаментозное лечение с включением системных/топических ГКГ, препаратов 5-АСК и/или иммунодепрессантов, и/или ингибитора фактора некроза опухоли альфа с учетом анамнестической резистентности. Пациентам 4-ой группы проводили аналогичное медикаментозное лечение, но с внутрикишечным введением озонкислородной смеси, которую импрегнировали ректально ежедневно в течение 20 дней. Больным 5-ой группы назначали такую же базисную медикаментозную терапию, но в сочетании с озонотерапией и ИНБГТ.

Группы больных были статистически однородными по возрасту. К тому же, группы больных статистически не различались и от группы здоровых лиц (контроля).

При знакомстве с диссертацией хотелось бы отметить, что обзор литературы изложен грамотным научным языком, в нем представлены весьма важные данные, как об известных, так и малоизученных патогенетических механизмах формирования язвенного колита, в том числе в контексте системного аутоиммунного процесса, хирургической и медикаментозной лечебной тактики, вспомогательных (адъювантных) методах лечения, взаимосвязи колита и рака. Особое место в обзоре литературы принадлежит проблеме формирования резистентности. Важным моментом является предоставление информации и секреторных

муцинах и их диагностической роли в раннем выявлении предрака и рака толстого кишечника. Анализ обзора литературы позволяет сделать вывод о компетентности автора по изучаемой проблеме и глубокой проработке как отечественных, так и зарубежных литературных источников.

Раздел 2 («Материал и методы исследования») содержит два подраздела. В подразделе 2.1 представлена подробная характеристика пациентов, критериев включения/исключения, рандомизации в группы наблюдения, описаны критерии постановки диагноза (клинические, эндоскопические, морфологические) с соответствующими ссылками на первоисточники. Представлен рисунок с рандомизацией на группы наблюдения. Таблица 2.1. содержит подробную характеристику больных и особенностей течения у них заболевания. Соискателем подчеркивается, что в исследование были включены только пациенты с осложнённой и резистентной формами колита. В качестве контроля использованы показатели у практически здоровых людей аналогичного пола и возраста. Автором подробно описаны этапы исследования, их цели и лечение, которое получала каждая из групп наблюдения. Представлена подробная характеристика базисной патогенетической терапии с указаниями дозировок лекарственных средств, кратности их приема/введения и длительности. Сформулированы показания к хирургическому лечению. В начале подраздела 2.2 представлена шкала оценки тяжести атаки и оценки тяжести эндоскопической картины методика Schroeder (таблицы 2.2-2.4). В этом же разделе приведена подробная и развернутая характеристика методов исследования и лечения с указанием лечебно-диагностической аппаратуры. Перечень подробный, он в полной мере отражают весь объем выполненных многочисленных исследований (эндоскопические, рентгенологические, томографические, эндотелиальные, агрегационные, вязкостные, коагуляционные, метаболические, воспалительные, иммунологические, морфологические и пр.). Все они современные и адекватны поставленным целям. Также следует отметить применение

автором высокоинформативных методов морфофункционального исследования толстого кишечника. Автором подробно описаны методики, при помощи которых выполнен комплекс инструментальных исследований. В этом же подразделе представлены критерии анализа эффективности лечения, оценивания качества жизни и статистические методы.

Раздел 3 посвящен морфологическим нарушениям и предикторам формирования осложненных и резистентных форм колита. В нем дана скрупулёзная характеристика не только макро- и микроскопических нарушений структуры толстого кишечника, но и использована иммуногистохимическая методика, которая позволила оценить качественный состав инфильтратов, используя моноклональные антитела к Т-лимфоцитам (CD3), В-лимфоцитам (CD20), макрофагам (CD68). В заключении, автор резюмирует, что многочисленные морфологические признаки колита можно условно подразделить на являющиеся показателем остроты, активности воспаления и связанные с длительным хроническим течением воспаления. Диссертант заключает, что морфологическое исследование материала эндоскопических биопсий позволяет получить большой объем информации, касающейся характера изменений (диагноза), иногда и отдельных особенностей патогенеза, например преобладания иммунных механизмов или неспецифической резистентности, а также оценки остроты и тяжести заболевания, его хронизации и тенденции к заживлению, особенно при применении дополнительных современных методов морфологического исследования, в частности иммуногистохимического. Раздел иллюстрирован красочными и наглядными микрофотоснимками.

Раздел 4 посвящен некоторым базовым механизмам формирования осложненных и резистентных форм язвенного колита. Он состоит из 8 подразделов. Подраздел 4.1 посвящен изучению патогенетической роли системного и локального воспаления у исследуемой категории больных.

Вначале автор представил небольшую литературную справку, которая позволяет понять смысл и значение системного и локального воспаления в генезе, хронизации и прогрессирования резистентности при язвенном колите. В последующем им приводятся табличные данные с показателями. Часть из них характеризует состояние системного воспаления, а другая часть – локального (интракишечного). Такое условное подразделение является важным не только с позиции патогенетических построений и взаимосвязи, но и с позиции понимания последовательности развития патологического процесса и воздействия в разных ситуациях системных и/или локальных противовоспалительных средств. Основополагающие данные приведены в динамике наблюдения, что делает цифровой материал более удобочитаемым и позволяет быстро понять динамику маркеров. В этой же главе приведена степень влияния на маркеры воспаления разных кишечных и экстракишечных факторов. Следует отметить, что автор начал данный подраздел с характеристики абсолютного и относительного содержания лейкоцитов в периферической крови, затем охарактеризовал уровень С реактивного протеина, в последующем перешел к анализу цитокинового баланса и завершил динамикой и описанием фекального кальцийпротектина, что подчеркивает высокий логический, методический и методологический уровень изложения материала.

В подразделе 4.2 представлена патогенетическая роль микробного дисбаланса толстого кишечника в формировании осложненных и резистентных форм заболевания. Вначале подраздела автор представил значение изучения кишечного дисбаланса у такой категории пациентов. В последующем в табличном и текстовом вариантах без дублирования охарактеризовал степени выраженности дисбиоза, и динамику разных типов микроорганизмов в ходе лечения и наблюдения. Важность данного раздела заключается в том, что одним из ведущих патогенетических механизмов возникновения и хронизации колита сегодня рассматривается

атипичная/извращенная реакция иммунной системы на нормальную, не измененную микрофлору толстой кишки.

Подраздел 4.3 посвящен аутоиммунным реакциям у больных осложненными и резистентными формами колита. Для демонстрации данного патогенетического механизма и его всеобъемлющей роли в формировании и самоподдержании осложненных и резистентных форм, автором изучен комплекс фагоцитарных, иммунологических, аутоиммунных реакций, проведен корреляционный анализ влияния этих факторов на кишечные и экстракишечные проявления при язвенном колите. Во второй части этого же подраздела автором подробно проанализированы системные клинические проявления колита, в том числе и висцеральные.

В подразделе 4.4 диссертантом проведена подробная оценка роли сосудистого фактора в формировании осложненных и резистентных форм колита. Для этого соискатель оценил в динамике наблюдения маркеры сосудистого повреждения и защиты. Показана зависимость эндотелиальной функции сосудов от тяжести течения резистентного колита. Продемонстрировано, что у такой категории больных формируется выраженный дисбаланс вазодилататорной и вазоконстрикторной систем, что в несравненно большей степени касается больных в стадии малигнизации кишечного язвенно-некротического процесса (1-я группа) и пациентов, подвергнутых стандартному хирургическому лечению (2-я группа наблюдения). Преобладание маркеров повреждения сосудистой ткани и критический дисбаланс вазодилататоры/вазоконстрикторы обусловлен высокой степенью активности локального кишечного язвенно-некротического и системного аутоиммунного воспалительного процесса, малигнизацией, большой хирургической травмой, особенностями течения послеоперационного периода и наличием, и тяжестью осложнений.

В подразделе 4.5 автор раскрыл патогенетическую роль вязкостных, коагуляционных и агрегационных нарушений. В частности, им

установлено, что при осложненном и резистентном колите развивается тромбоцитопения, что обусловлено как высокой активностью локального и системного иммуновоспалительного процесса, так и воспроизводством противотромбоцитарных антител, а также применением активных классов лекарственных средств, прежде всего иммунодепрессантов и антагонистов туморнекротического фактора альфа, обладающих цитотоксическими эффектами. Исходно существенно активизированные адгезивные свойства тромбоцитов, скорость процессов адгезии и снижение времени адгезии тромбоцитов, которые наиболее успешно удалось корригировать посредством совместного использования озоно- и гипокситерапии наряду с базисной противовоспалительной и иммунодепрессивной терапией. Наивысший риск тромботических явлений (как общих, так и локальных, внутрикишечных) проявляется у пациентов с опухолей трансформацией колита (1-я группа) и, несколько меньше, у лиц, подвергшихся хирургическому лечению (2-я группа). Частичная или полная реверсия установленных нарушений наблюдалась в группах больных с комбинированным терапевтическим лечением (4 и 5).

Подраздел 4.6 содержит информацию о морфометрических нарушениях эритроцитов и их роли в формировании осложненных и резистентных форм заболевания. Как логическое продолжение в этом подразделе отражены вопросы фоллатного дисбаланса. Установлено, что имеет место дефицит фолиевой кислоты и витамина B12, которые являются одной из основных причин формирования анемического синдрома. Степень снижения субстанций находится в прямой зависимости от тяжести течения язвенно-некротического процесса. Среди потенциальных причин тяжелого угнетения витаминного баланса являются: онкопролиферативный процесс, токсическое угнетение метаболизма, связанное как с большим объемом хирургического лечения и значительным ухудшением всасывания, так и с последующей базисной противоопухолевой и противоязвенной терапией.

Подраздел 4.7 посвящен динамическому изменению маркера регенерации. Автором подведена основа того, что фактор роста фибробластов является маркером активности регенеративных процессов, что является весьма важным моментом при язвенно-некротическом процессе, при котором механизмы деструкции слизистой оболочки толстой кишки преобладают над регенераторными. Подчеркивается, что у больных с неопластической трансформацией, развивается тяжелая депрессия регенерации, частично обусловленная потерей не только большого объема площади толстой кишки, но и последующей химиотерапией, значительно угнетающей клеточную пролиферацию и формирования соединительной ткани.

В подразделе 4.8 рассмотрены патогенетические механизмы метаболических нарушений. Для освещения материала автором использованы липидные и углеводные показатели, а также уровень мочевого кислоты в крови и ее клиренс. В конце подраздела 4.8 автор резюмирует о том, что у обследуемой категории больных развиваются сложные и разносторонние метаболические нарушения, степень выраженности которых зависит от наличия или отсутствия, прежде всего, неопластической трансформации колита. Липидные нарушения характеризуются угнетением уровня атерогенных липидов за счет их включения в активный неопластический процесс. Частота достижения оптимальных величин общего холестерина у них значительно выше, чем у больных колитом без опухолевой трансформации. В этой категории больных существенно менее выражены признаки инсулинорезистентности, однако уровень мочевого кислоты достоверно превосходит не только аналогичные величины у здоровых, но и у больных без признаков опухолевого роста.

Раздел 5 посвящен детальному анализу результатов лечения и содержит 5 подразделов. Первый из них посвящен влиянию отдельных факторов на эффективность лечебных мероприятий. Второй – анализу

причин резистентности (немедикаментозной и медикаментозной). Третий подраздел освещает вопросы выживаемости и частоты наступления клинико-эндоскопической ремиссии и суммарной эффективности лечения с использованием разных лечебных режимов и нежелательным/побочным явлениям в ходе наблюдения. Четвертый подраздел содержит информацию о параметрах качества жизни больных и здоровых в динамике наблюдения. Пятый подраздел отражает клиническое и прогностическое значения секреторного муцина 5-го типа.

Раздел, посвященный анализу и обобщению результатов исследований написан понятным научным языком и представляет собой анализ и сопоставление полученных результатов в сравнении с литературными данными. Следует подчеркнуть, что результатом этого анализа является выход в практику, на конкретный режим лечения, позволяющие улучшить прогностические показатели.

Выводы диссертации Плахотникова И.А. являются логичным завершением изучения вариантов патогенетических построений, обоснованию целесообразности использования в качестве компонента комплексной программы локальной озонотерапии и системной ИНБГТ, в особенности на реабилитационном этапе лечения, а также доказательству их эффективности и безопасности.

Практические рекомендации в целом конкретные, простые, воспроизводимые в реальной клинической практике.

Список литературных источников емкий. Он содержит основные русскоязычные и иностранные ссылки преимущественно за последние 10 лет.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Достоверность результатов, изложенных в диссертационной работе Плахотникова И.А., базируется на использовании современных,

метрологически поверенных средств и методов исследований, достаточном объеме клинического материала, использовании методик, адекватных поставленным задачам и применении современных методов статистического анализа. Положения, изложенные в диссертации, построены на достаточно изученных и проверяемых (воспроизводимых) фактах, которые согласуются с имеющимися опубликованными данными. Использованы авторские данные и результаты, полученных ранее по рассматриваемой тематике исследований. Установлено качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках.

Новизна научных положений доказана на основании тщательного анализа русскоязычных, украиноязычных и англоязычных источников научной литературы. Автором впервые уточнены, обобщены, расширены и систематизированы научные представления о базовых патогенетических механизмах формирования осложненных и резистентных форм у больных язвенным колитом. Впервые проведена комплексная оценка общности патогенетических механизмов, участвующих в формировании резистентности у больных осложненным и резистентным язвенным колитом. Впервые оценены клиничко-лабораторные особенности течения осложненного и резистентного колита и проанализировано влияние нескольких лечебно-реабилитационных режимов на эффективность лечения. Впервые проанализированы медикаментозные и немедикаментозные причины резистентности. Впервые проведен анализ результатов продолжительного наблюдения и эффективности разных лечебных подходов (хирургического и терапевтического с разным набором медикаментозных и немедикаментозных компонентов). Впервые оценена выживаемость и проанализированы причины смерти больных в условиях резистентности у больных язвенным колитом. Впервые обоснована целесообразность и доказана эффективность длительной интракишечной терапии озоном и сеансов гипокситерапии наряду со стандартной базисной

терапией у больных язвенным колитом в условиях резистентности. Впервые проведена комплексная оценка динамики клинических, лабораторных и инструментальных показателей на фоне разных режимов лечения. Впервые продемонстрирована диагностическая и прогностическая ценность секреторного муцина 5 типа.

Полнота представления материалов диссертаций в опубликованных научных работах и автореферате

По теме диссертации опубликовано достаточное количество работ, в том числе, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Донецкой Народной Республики, Украины, Российской Федерации, для опубликования основных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук.

Объем диссертации, структура и её оформление соответствуют требованиям, предъявляемым Высшей аттестационной комиссией Донецкой Народной Республики к работам, представляемым на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Замечания

В целом диссертационная работа оценивается положительно. В ходе рецензирования возникло непринципиальные пожелания:

1. Многие таблицы, например, 4.8, 4.9, 4.12, 4.19, 4.20 перенасыщены цифровым материалом, аббревиатурами, пояснениями и ссылками, что затрудняет восприятие материала.
2. Некоторые выводы (5, 10, 18) имеют большой объем, из-за чего плохо воспринимаются. Возможно, их было бы целесообразно представить в виде нескольких отдельных коротких выводов.
3. Положения практических рекомендаций 10 и 11 трудно воспринимаются из-за излишней детализации, особенно в части проведения гипокситерапии.

4. Среди положений, выносимых на защиту, целесообразно было бы указать в положении 6 взаимосвязь колитических проявлений с внекишечным поражением органов и систем.
5. Среди положений, выносимых на защиту, целесообразно было бы конкретизировать и представить в компактной форме положение 7.
6. В обзоре литературы (раздел 2) целесообразно было бы выделить диагностическую ценность секреторных муцинов в отдельный подраздел (поскольку это один из важных диагностических моментов), а не ограничиваться их характеристикой в подразделе, посвященным вопросам диагностики язвенного колита.

В порядке обсуждения, хотелось бы получить от диссертанта ответы на следующие **вопросы**:

1. Можно ли использовать определение секреторного муцина 5-го типа в качестве скринингового маркера трансформации язвенного колита в рак? Если это так, то насколько это целесообразно применять в общей практике? В каких клинических ситуациях целесообразно исследовать скрининговое тестирование на наличие секреторного муцина 5-го типа (всем больным язвенным колитом или только в условиях резистентности к лечению)?
2. Как переносили пациенты внутрикишечное введение озона? Были ли осложнения местного или общего плана?
3. Если одной из основных причин немедикаментозной резистентности является инфицирование вирусами, целесообразно ли проводить таким больным эрадикационное лечение?
4. Какую цель вы преследовали на 3-м этапе исследования, т.е. через год от начала исследования?
5. По каким критериям Вы оценивали эндоскопическую тяжесть колита?
6. Учитывая выявленный дефицит фолиевой кислоты и витамина В12, целесообразно ли проведение дополнительного лечения этими препаратами?

7. Всегда ли тождественна активность системной и локальной (интракишечной) воспалительной реакции?

Заключение

Диссертационная работа Плахотникова Ивана Александровича на тему «Патогенетические механизмы формирования осложненных и резистентных форм язвенного колита и методы их коррекции» посвящена актуальной проблеме медицины и является полностью завершенным научным исследованием. По актуальности темы, научной новизне, патогенетической направленности, практическому значению, методическому и методическому уровню работа Плахотникова И.А. соответствует критериям, установленным п. 2.1 «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор, лауреат Государственной премии Украины в области науки и техники, заведующий кафедрой общей хирургии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет

им. В.И. Вернадского»

Михайличенко В.Ю.

Телефон (3652) 554-911

Электронный адрес office@csmu.strace.net

Почтовый адрес: Российская Федерация, Республика Крым, 295051, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7.

Официальный оппонент д.м.н., профессор Михайличенко В.Ю. согласен на автоматизированную обработку персональных данных.

Подпись профессора Михайличенко В.Ю. заверяю

Проректор по научной деятельности ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И.

Вернадского»

профессор Кубышкин А.В.

