

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Литвиненка Олександра Олександровича «Оптимізація факторів прогнозу і лікування хворих з рецидивами злоякісних фіброзних гістіоцитом м'яких тканин кінцівок» представленої на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 222 Медицина.

Актуальність теми дисертаційної роботи

Актуальність дослідження зумовлена, в першу чергу тим, що злоякісна фіброзна гістіоцитома (ЗФГ) є однією із самих частих форм сарком м'яких тканин і становить від 15 до 30%, серед усіх неоплазій м'яких тканин і найбільш часто зустрічається серед сарком у хворих віком старше 40 років. ЗФГ відноситься до групи сарком м'яких тканин, які за особливостями росту, клінічному протіканню та прогнозу відносяться до числа найбільш агресивних пухлин людини. На сьогоднішній день не вщухають суперечки відносно клініко-морфологічних факторів рецидивування, таких як ступінь злоякісності, розміри, вік хворого, наявність попередніх рецидивів в анамнезу і наявність окремих молекулярно-генетичних маркерів. У хворих з первинними саркомами м'яких тканин кінцівок для визначення незалежних прогностичних факторів локального рецидивування, метастазування і виживаності, використовуючи стандартні фактори включають і гістологічний тип пухлини. Біологічна поведінка сарком м'яких тканин різна серед гістологічних підтипів і потребує подальшого вивчення. Отже, обраний напрямок дисертаційного дослідження є актуальним для клінічної онкології.

Метою роботи було підвищення ефективності лікування хворих з рецидивними формами злоякісних фіброзних гістіоцитом шляхом оптимізації можливостей прогнозу клінічного перебігу захворювання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертація виконувалась відповідно до основного плану науково-дослідних робіт Донецького національного медичного університету МОЗ

України і є фрагментом теми МОЗ України «Діагностика та комбіноване лікування запально-деструктивних та онкологічних захворювань органів і систем для обґрунтування використання схем клітинних і тканинних технологій» (№ держреєстрації 0116U008235, 2017-2019рр.).

Наукова новизна одержаних результатів

Дане дослідження є одним із перших, яке було виконано в Україні і присвячено вивченню ЗФГ м'яких тканин кінцівок. Автором вперше проведено комплексне ретроспективне та проспективне дослідження, яке дозволило з'ясувати клінічні та молекулярно-біологічні особливості ЗФГ м'яких тканин кінцівок та запропонувати шляхи оптимізації факторів прогнозу і лікування хворих з рецидивами.

Вперше проведено порівняльний аналіз різних методів лікування хворих з локальними та місцево - розповсюдженими формами первинної та рецидивної злоякісної фіброзної гістіоцитомі м'яких тканин кінцівок. Вперше на підставі узагальнення результатів лікування хворих на ЗФГ м'яких тканин виявлені фактори які впливають на розвиток рецидивів.

Вперше визначено, що показники загальної та безрецидивної виживаності хворих ЗФГ МТ кінцівок залежать від локалізації пухлини та не залежать від статі та віку хворих.

Встановлено, що віддалені результати лікування хворих на ЗФГ залежать від стадії пухлинного процесу його TNM критеріїв та якості надання первинної лікувальної допомоги.

Встановлена залежність результатів лікування від стадії та ступеню злоякісності пухлини у даної категорії хворих. Проведено порівняльний аналіз результатів різних методів лікування хворих з місцевими рецидивами. Вперше ідентифіковано молекулярно-біологічні та епігенетичні ознаки, асоційовані зі ступенем злоякісності та агресивністю перебігу ЗФГ. Найбільший індекс проліферації ($64, \pm 12,2$) та високі показники експресії Ki-67 ($68,9 \pm 3,3$) зафіксовано у пухлинних клітинах хворих на рецидивуючі ЗФГ ($p < 0,05$).

Вперше доведено зв'язок показників експресії мікроРНК-34а, -182 та -199а зі ступенем диференціювання та проліферативною активністю ЗФГ, а також із ризиком виникнення рецидиву захворювання. Показано, що характерною ознакою ЗФГ з несприятливим перебігом хвороби є підвищення рівня експресії мікро-РНК – 182 та мікро-РНК – 199а на тлі зниження рівня експресії мікро-РНК – 34а ($p < 0,05$). У хворих з сприятливим перебігом захворювання рівні мікро-РНК-182 та -199а були у 1,5 та 2 рази нижчими, а мікро-РНК-34а – вищим на 56%.

Практичне значення одержаних результатів

Проведені автором дослідження визначають шляхи підвищення ефективності лікування хворих на ЗФГ МТ кінцівок, допомагають в виборі органозберігаючого методу лікування хворих з первинною і рецидивною формами ЗФГ. Запропонована оптимальна оцінка факторів прогнозу, дає можливість планувати лікування з урахуванням біометричних особливостей пухлини. Автором запропоновано способи органозберігаючих оперативних втручань у хворих з рецидивами ЗФГ де мало місце залучення магістральних судин до пухлинного росту рецидиву, з заміщенням артерій судинними ендопротезами.

Здобувачем, на підставі комплексного аналізу даних дослідження, розроблені клінічні рекомендації з оптимізації діагностики та лікування хворих на первинні та рецидивні форми ЗФГ, що дозволить покращити прогноз та виживаність хворих на ЗФГ.

На підставі комплексних клінічних та молекулярно-біологічних досліджень розроблено алгоритм прогнозування агресивності перебігу ЗФГ шляхом дослідження ДНК-статусу, проліферативної активності та експресії мікроРНК -182, -199а та -34а у пухлинних клітинах. Доведено, що використання розробленого алгоритму є доцільним при визначенні ризику виникнення рецидивів у хворих на ЗФГ, що забезпечує вчасну корекцію схем

терапії, покращує віддалені результати лікування і показники виживаності цього контингенту хворих.

Результати проведених досліджень можуть стати підґрунтям для розробки нових діагностичних критеріїв та схем лікування у хворих на ЗФГ м'яких тканин із застосуванням таргетних препаратів.

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

Дисертаційне дослідження виконане на сучасному науково-методичному рівні. У ньому представлено результати ретроспективного та проспективного дослідження 130 хворих на ЗФГ м'яких тканин кінцівок, які знаходились на лікуванні в Національному інституті раку з січня 1985р по грудень 2018р. Дослідження по вивченню ДНК - цитометричних параметрів, маркеру активності проліферації Ki-67, та мікро-РНК проведено на операційному матеріалі 46 хворих на ЗФГ, що проходив лікування в клініці інституту. Проведено аналіз однорічної, трирічної, п'ятирічної безрецидивної виживаності хворих в залежності від локалізації пухлини, а також аналіз загальної виживаності хворих на ЗФГ МТ які мали рецидиви захворювання залежно від методу лікування. Достатній клінічний матеріал дозволив автору провести адекватний статистичний аналіз результатів і на його основі зробити достовірні висновки.

Дослідження виконані на високому методичному рівні, отримані результати мають наукову новизну, теоретичне значення і практичну спрямованість. Результати дослідження зрозуміло викладені в тексті, 35 таблицях, та 40 рисунках.

Статистична обробка отриманих результатів виконана з використанням сучасних методів статистичного аналізу медичних даних, що підтверджує їх достовірність. Усі положення і висновки дисертаційної роботи добре аргументовані та підтверджені конкретним фактичним матеріалом, гарно проілюстровані.

Запропонований алгоритм прогнозування агресивності перебігу ЗФГ МТ кінцівок, який базується на сучасних результатах досліджень цитометричних параметрів ДНК, рівня експресії білка Ki-67, та рівня експресії мікро-РНК-182, 199а та 34а, висновки і клінічні рекомендації автора є логічним та переконливим завершенням проведеного аналізу отриманих результатів дослідження.

Повнота викладення матеріалів в опублікованих працях

Вивчивши тексти дисертаційної роботи, наукових публікацій, виступи автора на вітчизняних і міжнародних конференціях та з'їздах, можна зробити висновок, що дисертація Литвиненка О.О. – це завершена наукова праця, яка за обраною темою, актуальністю поставлених і вирішених завдань, методичними підходами до їх виконання та отриманими науковими і практичними результатами є актуальною та сучасною як з наукової так і практичної точок зору.

За матеріалами дисертації опубліковано 29 наукових робіт, у тому числі 13 статей, 7 у фахових виданнях переліку ДАК МОН України, 3 статті у періодичних виданнях держав які входять до організації економічного співробітництва та розвитку, та Європейського Союзу, 1 опублікована в науковому журналі США, 13 тез у матеріалах конгресів з'їздів та наукових конференцій; отримано патент України на корисну модель, 1 інформаційний листок МОЗ України, 1 Методичні рекомендації МОЗ і НАМН України.

Висновки та практичні рекомендації представленої дисертації є конкретними, які впливають із результатів роботи та відповідають поставленим завданням. Наукові праці повністю відповідають її змісту, відображають всі результати, висновки та рекомендації.

Оцінка структури дисертації

Дисертація Литвиненка Олександра Олександровича побудована традиційно, викладена українською мовою на 235 сторінках машинопису і

складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», двох розділів власних досліджень, розділу «Узагальнення результатів дослідження», висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури.

У вступі автор чітко обґрунтовує актуальність досліджуваної проблеми, наводить літературні дані про захворюваність на ЗФГ МТ, агресивність перебігу, виживаність пацієнтів згідно даних літератури. Окреслює коло проблемних питань, що стосується діагностики лікування, розвитку локальних рецидивів після проведеного лікування та розвитку повторних рецидивів захворювання.

На основі актуальності проблеми, новизни та практичного значення дослідження в даному розділі сформульована мета та завдання роботи. Вступ написаний згідно вимог ДАК України і зрозуміло висвітлює проблему дослідження.

Розділ 1, присвячений огляду літератури, в якому висвітлено дані відносно захворюваності на ЗФГ МТ кінцівок, природи даної пухлини, розвиток місцевих рецидивів у хворих. Також у цьому розділі автор розкриває особливості діагностики первинної і рецидивної форми ЗФГ МТ кінцівок. В даному розділі автор детально аналізує різні методи лікування що застосовуються у пацієнтів із ЗФГ МТ, вказує на те, що хірургічний метод як самостійний вид, і як компонент комбінованої, або комплексної терапії остається провідним в лікуванні даної патології при дотриманні принципів абластики хірургічного втручання і суворого вибору об'єму оперативного втручання. Вказує на перспективи подальшого дослідження показників плідності, маркеру пухлинної прогресії, ролі молекул РНК.

Розділ 2 – Матеріали та методи дослідження. В даному розділі автор зрозуміло пояснює загальну методологію роботи, наводить систематизовані дані отримані при обстеженні і лікуванні хворих на ЗФГ МТ кінцівок, які знаходились на лікуванні в Національному інституті раку. Розділ присвячений характеристиці об'єкту, предмету та методів дослідження.

Здобувач надає детальний опис обстежених хворих, використаних клінічних, лабораторних, інструментальних методик, описує методи лікування які отримали хворі на первинну і рецидивну ЗФГ, а також методи статистичної обробки і аналізу отриманих даних.

Розділ 3 представляє результати лікування хворих на ЗФГ МТ кінцівок і сформований із 6 підрозділів.

В підрозділі 3.1 представлено результати аналізу ЗФГ МТ плеча, діагностики перебігу та лікуванню первинних і рецидивних форм. Дані відносно стадії первинного процесу у хворих з рецидивами новоутворення були відсутні у 42,8% пацієнтів. Низький ступінь диференціювання пухлини встановлено у 85,7% пацієнтів, які мали рецидиви захворювання. Помітним у 14,3% хворих. В процесі лікування першого рецидиву захворювання, хірургічне видалення, як самостійний метод, було використано у 69,3% пацієнтів, із них у 28,6% хворих, хірургічне лікування на даному етапі проводилось за місцем проживання.

В підрозділі 3.2 автор наводить дані аналізу клінічного перебігу, особливості діагностики та результатів лікування ЗФГ МТ передпліччя, їх вплив на розвиток місцевих рецидивів пухлини. Починали лікування в клініці інституту 40% пацієнтів, тому у них було можливим встановити стадію патологічного процесу за критеріями TNM. Решта 60% хворих поступили з рецидивами захворювання, вони розпочинали лікування за місцем проживання не в онкологічних закладах. Отримати офіційні данні у них відносно критерій TNM не було можливим. Низький ступінь диференціювання пухлини встановлено у 80% хворих. Рецидиви захворювання виникли у 60% пацієнтів. Комбіноване лікування на першому етапі отримали 40% хворих, рецидиви захворювання у них не відмічені.

Підрозділ 3.3 відображає характеристику хворих на ЗФГ МТ сідничної області, діагностику, перебіг, лікування первинних і рецидивних форм. Розвиток місцевих рецидивів у хворих на ЗФГ МТ сідниці відмічено у 44,4% пацієнтів. Хірургічне органозберігаюче лікування на першому етапі

перенесли 55,5% пацієнтів, комплексне 33,3% і комбіноване 11,1%. У 44,4% хворих відмічено виникнення місцевих рецидивів захворювання після оперативного лікування в період від 3 тижнів до 3 місяців. Автор акцентує увагу, що всі хворі мали високу ступінь злоякісності пухлини.

В підрозділі 3.4 представлено аналіз результатів клінічного перебігу, лікування і розвитку місцевих рецидивів ЗФГ МТ стегна. В підрозділі автор аналізує дані відносно стадіювання пухлинного процесу за критеріями TNM і вказує, що встановити стадію пухлинного процесу вдалося тільки у 56,9% хворих. У решти 43,1% пацієнтів, які розпочинали лікування за місцем проживання, не в онкологічних закладах, встановити стадію було неможливо. Автор звертає увагу, що взагалі лікування за місцем проживання розпочинали 67,7% пацієнтів. Є необхідним акцентувати увагу, що в процесі виконання роботи віддавалась перевага органозберігаючим оперативним втручанням при хірургічному видаленні рецидивів новоутворення навіть в тих випадках коли мало місце залучення магістральних судин стегна до пухлинного росту рецидиву або рецидив формувався навколо судин стегна, виконували видалення пухлини з резекцією артерій з послідовним заміщенням дефекту артерії судинним ендопротезом. В даному дослідженні зазначені оперативні втручання виконані у 38,6% хворих.

Підрозділ 3.5 – присвячено вивченню ЗФГ МТ гомілки, клінічному перебігу, лікуванню, розвитку місцевих рецидивів. В даному підрозділі проаналізовано структуру захворюваності, особливості діагностики та лікувальних підходів до хворих на ЗФГ МТ гомілки. За результатами аналізу встановлено, що класифікувати пухлинний процес було можливим у 68,2% пацієнтів. Низький ступінь диференціювання пухлини був у всіх без винятку пацієнтів. Лікування розпочинали з хірургічного втручання у 54,5% пацієнтів. У 45,4% це були органозберігаючі оперативні втручання і у 9,1% - ампутація кінцівки. За місцем проживання оперативні втручання виконані у 31,8% хворих. Комбінований підхід на першому етапі лікування отримали 18,2% хворих. За місцем проживання даний вид лікування отримали 13,6%

пацієнтів. Комплексний підхід на початку лікування було застосовано у 13,6% хворих. Розвиток місцевих рецидивів захворювання після отриманого лікування відмічено у 72,7% хворих.

Підрозділ 3.6 присвячено вивченню віддалених результатів лікування хворих на злоякісну фіброзну гістіоцитому м'яких тканин кінцівок. Дисертантом вперше піддано аналізу результати виживаності хворих на ЗФГ МТ, які проходили лікування з приводу розвитку місцевих рецидивів, в порівнянні з хворими у яких не виникло рецидивів і з'ясовано, що показники кумулятивної виживаності у хворих з рецидивами захворювання, були на значно нижчому рівні ніж у хворих з відсутнім розвитком рецидивів. Проведено порівняння хворих, у яких розвинулись рецидиви і хворих, які не мали рецидивів ЗФГ по t-критерію та вказано, що середня тривалість життя після встановлення діагнозу і проведеного лікування різна у даних груп хворих. У пацієнтів, що мали рецидиви захворювання середня тривалість життя знаходилась в межах 45,2 міс, в той час, як у пацієнтів де не було рецидивів середня тривалість життя становить 52,3 міс. В дисертаційній роботі використовуючи метод Каплан-Мейєра, встановлена відмінність в загальній виживаності у хворих з рецидивами захворювання, що проходили лікування різними методами. В подовж перших шести років показники загальної виживаності кращі у хворих які лікувались тільки хірургічним методом. В подальшому періоді кращими є показники після комбінованого лікування навіть ніж у групи де проводилось комплексне лікування.

В розділі 4 – проведено аналіз ДНК-статусу, проліферативної активності та профілю експресії мікро-РНК злоякісних фіброзних гістіоцитом. В залежності від клінічного перебігу ЗФГ, хворі були розподілені на групи, що мали сприятливий перебіг і групу хворих у яких протягом перших трьох років діагностовано рецидиви захворювання – несприятливого перебігу. Вивчення ДНК-цитометричних параметрів показало, що досліджені групи хворих відрізняються значною гетерогенністю за показниками плоідності. Аналіз розподілу клітин за

фазами клітинного циклу в середньому по групі хворих зі сприятливим перебігом показав, що основна маса клітин диплоїдних пухлин знаходилась в G_0/G_1 фазі клітинного циклу. Показник, що характеризує біологічну поведінку пухлини, є швидкість проліферації клітин, що визначається за вмістом клітин в S-фазі клітинного циклу. В групі пацієнтів зі сприятливим перебігом вміст клітин в S-фазі був не високим і становив 6,0%, в той час як в групі хворих з несприятливим перебігом кількість клітин в S-фазі була в 3 рази більшою і дорівнювала 18,2%. У хворих з несприятливим перебігом маса клітин диплоїдних пухлин, що знаходилась в G_0/G_1 фазі була менша ніж у пухлин 1 групи. Автором визначено характерні молекулярно-біологічні ознаки та деякі епігенетичні особливості первинних та рецидивних ЗФГ. Встановлено, що рецидивуючі ЗФГ характеризуються високою проліферативною активністю і індексом проліферації, що свідчить про їх високий ступінь злоякісності. Доведено зв'язок показників експресії мікро РНК-34а, -182 та 199а із ступенем диференціювання та проліферативної активності ЗФГ, а також із ризиком виникнення рецидиву захворювання. На основі отриманих даних є можливим прогнозувати агресивність поведінки даного виду саркоми м'яких тканин.

Розділ 5 «Аналіз результатів дослідження» представляє обговорення та аналіз отриманих результатів дисертаційної роботи, що підтверджені даними статистичного аналізу та співставлення їх з даними сучасної наукової літератури, спираючись на які доводиться обґрунтованість власних положень отриманих під час виконання роботи та сформувані у висновках. Автором проведено аналіз помилок, що стосуються діагностики та лікування ЗФГ МТ кінцівок. Результати проведеного дослідження розширюють існуючі уявлення про гетерогенність ЗФГ, як за ДНК цитометричними параметрами, так і за клінічним перебігом, та проліферативною активністю, а також підтверджують участь епігенетичної складової у формуванні ступеня злоякісності ЗФГ.

Вкінці кожного розділу автор коротко та інформативно підсумовує отримані результати дослідження.

Висновки та практичні рекомендації логічно відповідають поставленим завданням, відображають новизну роботи та її практичне значення.

Практичні рекомендації сформульовані враховуючи отримані результати дослідження.

Недоліки дисертації щодо змісту та оформлення і запитання

Принципових зауважень до дисертації О.О.Литвиненка немає. Дисертаційна робота написана сучасною літературно-науковою мовою, автор чітко і логічно представляє отримані результати і формулює положення. Робота залишає позитивне враження.

Під час рецензування і аналізу дисертаційної роботи виникли деякі запитання до здобувача:

1. Скільки хворих на ЗФГ МТ кінцівок у яких виникли місцеві рецидиви захворювання розпочинали лікування за місцем проживання?
2. В процесі лікування першого рецидиву захворювання у якої кількості хворих використовувалась променева терапія.

Висновок

Дисертаційна робота здобувача Литвиненка Олександра Олександровича на тему «Оптимізація факторів прогнозу і лікування хворих з рецидивами злоякісних фіброзних гістіоцитом м'яких тканин кінцівок» є самостійно виконаною, завершеною науково-дослідною працею, яка присвячена актуальній проблемі сучасної онкології – покращенню результатів лікування хворих з рецидивними формами ЗФГ МТ кінцівок.

За своєю актуальністю, обсягом проведених досліджень, науковою новизною та практичним значенням отриманих результатів, дисертація повністю відповідає вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти

ступеня доктора філософії та докторів наук у закладах вищої освіти (наукових установах) затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року № 261 (зі змінами і доповненнями від 03 квітня 2019 року №283) п. 10 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії» затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 6 березня 2019 року № 167 відносно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, а її автор Литвиненко Олександр Олександрович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина.

Офіційний опонент:

доктор медичних наук, завідувач

кафедри онкології Національного медичного

університету ім.О.О. Богомольця

Р.І. Верещако

