

ВІДГУК

**офіційного опонента доктора медичних наук, професора,
професора кафедри онкології Івано-Франківського національного
медичного університету**

ГОЛОТЮКА ВОЛОДИМИРА ВОЛОДИМИРОВИЧА

на дисертаційну роботу

ТИМОШЕНКА АНДРІЯ ВЯЧЕСЛАВОВИЧА

на тему

«ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ

МЕТАСТАЗІВ У КІСТКИ СКЕЛЕТУ ПРИ РАКУ

ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ»,

подану на здобуття ступеня доктора філософії

з галузі знань 22 «Охорона здоров'я»,

зі спеціальності 222 «Медицина»

Актуальність обраної теми досліджень

Дисертаційна робота присвячена розробці підходів до підвищення ефективності лікування раку передміхурової залози (РПЗ), що є вкрай актуально через високу інцидентність та летальність цього захворювання серед чоловіків. Згідно з представленими автором даними, до 70% пацієнтів, які перенесли радикальне лікування або мають первинно-метастатичний РПЗ, стикаються з метастатичними ураженнями кісткової тканини, а у 90% чоловіків із прогресуючим РПЗ розвиваються кісткові метастази.

Значна поширеність метаболічного синдрому (МС) серед хворих на РПЗ та його вплив на розвиток кісткових метастазів також підкреслюють необхідність цього дослідження. Метаболічні порушення, характерні для МС, суттєво впливають на прогресію РПЗ, що підкреслює необхідність вивчення їх ролі у процесах віддаленого метастазування.

Крім того, останніми роками доведено, що ключову роль у прогресії гормонозалежних злоякісних новоутворень, в тому числі РПЗ, відіграють порушення матрицелюлярних протеїнів на рівні пухлини та організму, що відкриває перспективи для розробки нових підходів до

персоналізованої терапії та прогнозування перебігу захворювання.

Таким чином, тема дисертаційної роботи має безсумнівну актуальність, оскільки дослідження спрямоване на вирішення важливої медичної проблеми, що стосується покращення ранньої діагностики метастазів у кісткову тканину у пацієнтів із РПЗ, що сприятиме підвищенню ефективності лікування та покращенню якості життя хворих.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Дисертаційне дослідження виконано на базі відділу моніторингу пухлинного процесу та дизайну терапії Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України в рамках науково-дослідних робіт за темами: «Роль маркерів ремоделювання кісткової тканини у формуванні ступеня злоякісності найбільш розповсюджених гормонозалежних новоутворень» (2019-2023 рр., державний реєстраційний №0118U005468); «Дослідження реактивного мікрооточення як фактора прогресії раку передміхурової залози» (номер державної реєстрації НДР: 0122U002081) та «Створення панелей пухлинно-асоційованих біомаркерів для ранньої діагностики та прогнозування перебігу раку передміхурової залози» (№ державної реєстрації 0122U001976).

Таким чином, робота має чіткий зв'язок з поточними науковими програмами та планами, що підкреслює її актуальність та наукову значущість у контексті вирішення важливих завдань сучасної онкології.

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

Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням, виконаним на високому методологічному рівні. Обґрунтованість наукових положень і висновків, викладених у дисертації, забезпечена професійним вирішенням автором ключових наукових завдань, що сприяло досягненню мети дослідження. Логічна структура дослідження

відповідає поставленій меті: кожен розділ і підрозділ послідовно пов'язаний із попереднім та доповнює його. Робота виконана на експериментальному матеріалі з дотриманням основних біоетичних норм і правил, що відповідають міжнародним і вітчизняним стандартам, прийнятим у наукових дослідженнях. Комісія з питань етики ІЕПОР ім.Р.Є.Кавецького НАН України підтвердила дотримання етичних принципів при виконанні наукових досліджень Тимошенка Андрія В'ячеславовича позитивно оцінила дисертаційне дослідження «Підвищення ефективності ранньої діагностики метастазів у кістки скелету при раку передміхурової залози» (протокол № 3 від 05.03.2024 року).

Для збору клініко-анамнестичних даних застосовувався стандартний протокол опитування пацієнтів згідно з нормами форми 029-О (стаціонарна історія хвороби).

Визначення показників ліпідного обміну, рівня глюкози та лужної фосфатази (ЛФ) у сироватці крові хворих на РПЗ здійснено біохімічним методом. Експресію OPN та ON на парафінових зрізах досліджено імуногістохімічним методом, а експресію мікроРНК-29b-2-5p та мікроРНК-181a-5p у сироватці крові визначено за допомогою кількісної ПЛР у реальному часі. Для оцінки достовірності отримані експериментальні дані були піддані статистичній обробці.

Достовірність відмінностей між показниками двох незалежних груп за кількісною ознакою оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента або U-критерію Манн-Уїтні. Для оцінки зв'язку експресії досліджених маркерів із клініко-патологічними характеристиками РПЗ використані коефіцієнти Пірсона та Спірмена. Виживаність хворих аналізували за методом Каплана-Мейєра, достовірність між кривими – з використанням логарифмічного рангового тесту. Достовірними вважалися розбіжності при $p < 0,05$.

Обсяг проведених досліджень і їх інформативність дозволили

забезпечити належну обґрунтованість наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.

Автор провів ретельне обговорення положень дисертації, використовуючи сучасні літературні джерела, що підкреслює достовірність наукових положень та висновків.

Новизна представлених теоретичних та експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях

Дисертантом вперше ідентифіковано молекулярно-біологічні ознаки РПЗ у хворих з різним клінічним статусом та ризиком прогресії пухлинного процесу. Вперше доведено, що високий ризик віддаленого метастазування за наявності МС асоціюється з підвищенням рівня загального ПСА, ЛФ та кальцію у сироватці крові хворих.

Доведено статистично значущий вплив МС на терміни виникнення рецидиву захворювання у пацієнтів з середнім та високим ризиком прогресії РПЗ. Найбільш суттєві порушення експресії пухлинно-асоційованих матрицелюлярних протеїнів - остеопонтину (OPN) та остеонектину (ON) та циркулюючих мікроРНК- 29b та -181, які залучені в регуляцію їх експресії, зафіксовано за наявності МС у хворих із високим ризиком прогресії у кісткову тканину.

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження

Проведене дослідження вносить значний внесок у розуміння молекулярних механізмів патогенезу та агресивності перебігу РПЗ.

Доведено доцільність використання показників експресії пухлинно-асоційованих матрицелюлярних протеїнів та циркулюючих факторів їх регуляції для оцінки метастатичної активності РПЗ, що в комплексі з оцінкою метаболічного статусу дозволяє здійснювати ідентифікацію пацієнтів із високим ризиком розвитку рецидиву пухлинного процесу, які потребують детального спостереження та індивідуалізованої тактики лікування.

Усе зазначене свідчить про те, що дана дисертаційна робота є важливим і актуальним науковим дослідженням, результати якого мають не лише наукову новизну, але й перспективи для практичного застосування в онкологічній практиці.

Основні результати дисертаційного дослідження повністю відображені у наукових публікаціях. Загалом, за матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць, включно з 7 статтями, дві з яких у виданнях, що індексуються у Scopus (Experimental Oncology, 2023 – імпакт-фактор 1,5, та Neoplasma, 2022 – імпакт-фактор 2,97), а також одна теза доповіді на науковій конференції.

Особистий внесок здобувача

Дисертантом спільно з науковим керівником сформовано мету і завдання, розроблено дизайн та план дослідження. Здобувач самостійно здійснив аналіз літератури та оцінку впливу клініко-лабораторних, рентгенологічних та морфологічних методів, а також метаболічного синдрому на прогресію РПЗ різного ступеня ризику. Також здобувач відібрав колекцію зразків пухлинної тканини та сироватки крові хворих на РПЗ, проводив їх динамічне спостереження, клінічний огляд та обстеження. Спільно з науковим керівником було визначено напрямки і завдання досліджень, а також проаналізовано їх результати. Здобувач особисто провів статистичний аналіз отриманих даних. Дисертант повністю виконав індивідуальний план наукової роботи та індивідуальний навчальний план. Здобувач продемонстрував високий рівень набуття компетенцій, теоретичних знань, умінь та навичок, опанував методологію наукової та педагогічної діяльності, що дало йому змогу отримати нові науково обґрунтовані теоретичні та практичні результати досліджень та вирішити конкретне наукове завдання з оптимізації ранньої діагностики кісткових метастазів у пацієнтів з РПЗ.

Аналіз структури дисертації

Дисертація складається з таких розділів: анотація, вступ, огляд

літератури, матеріали та методи досліджень, розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки та список використаних джерел. Роботу викладено на 163 сторінках, проілюстровано 33 рисунками та 23 таблицями.

У «Вступі» аргументовано актуальність роботи, сформульовано мету і наукові завдання, висвітлено наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, особистий внесок дисертанта, апробацію результатів.

В огляді літератури Тимошенко А. В. виділив 3 підрозділи, де охарактеризував сучасний стан досліджуваної проблеми, акцентувавши увагу на актуальності ранньої діагностики та лікування РПЗ. Автор підкреслив, що РПЗ займає друге місце серед онкологічних захворювань в Україні та є основною причиною смертності чоловіків у світі, що підтверджується зростанням кількості нових випадків і високими показниками смертності. В огляді також розглянуто вплив МС на агресивність перебігу РПЗ, наголошено на значенні молекулярних маркерів, таких як OPN і ON у процесах ремоделювання кісткової тканини та розвитку кісткових метастазів.

Проблема ранньої діагностики кісткових метастазів у пацієнтів з РПЗ залишається невирішеною, незважаючи на впровадження нових методів діагностики, таких як PSMA ПЕТ-КТ. Автор також акцентував увагу на важливості вивчення ролі епігенетичних порушень регуляції експресії у прогресуванні РПЗ та розвитку резистентності до терапії. Результати досліджень підтверджують необхідність індивідуалізації лікування та пошуку нових прогностичних маркерів, що дозволить покращити тривалість і якість життя пацієнтів із РПЗ.

У розділі 2 «Матеріали і методи досліджень» охарактеризовано методологічний підхід до дослідження, зокрема підбір клінічного матеріалу, методи обстеження хворих на РПЗ та аналіз експресії молекулярних маркерів. Було проведено ретроспективну та

проспективну оцінку даних 521 пацієнта, розподілених на групи залежно від ризику прогресії захворювання, а також забір зразків для подальших лабораторних досліджень. Особливу увагу приділено визначенню експресії мікроРНК-29b та -181a, а також матрицелюлярних білків OPN та ON, що виконувалося з використанням методів ПЛР у реальному часі та імуногістохімічного аналізу. Комплексний підхід дозволив дослідити кореляції між клінічними показниками та експресією молекулярних маркерів, що впливає на агресивність перебігу РПЗ та ймовірність розвитку кісткових метастазів.

Експериментальна частина дисертаційної роботи побудована за логічною схемою, виконана на високому науково-методичному рівні з використанням сучасного обладнання. Результати власних досліджень представлені у розділах (3-6) дисертаційної роботи.

Розділ 3 «Клініко-морфологічні особливості діагностики пацієнтів з раком передміхурової залози та розвитком кісткових метастазів при наявності та відсутності метаболічного синдрому» присвячений дослідженню впливу МС на прогресію РПЗ. У цьому розділі автор розкриває патофізіологічні механізми, які пов'язують МС із розвитком кісткових метастазів, що включають порушення ліпідного обміну, інсулінорезистентність та хронічне запалення. Проведено детальний аналіз клінічних і лабораторних даних пацієнтів, що дозволило встановити зв'язок між наявністю МС та агресивністю перебігу РПЗ.

Головною ідеєю розділу є підтвердження того, що МС є ключовим фактором, який сприяє прогресії РПЗ і розвитку кісткових метастазів. Автор акцентує увагу на необхідності врахування метаболічного статусу пацієнтів при плануванні лікувальної стратегії та прогнозуванні перебігу захворювання. Аналіз отриманих даних свідчить про важливість ранньої діагностики МС як фактору ризику для агресивного розвитку пухлинного процесу та необхідність розробки нових підходів до лікування пацієнтів.

Розділ 4 «Особливості експресії молекулярно-біологічних маркерів кісткових метастазів (остеопонтину та остеонектину) у хворих на рак передміхурової залози з наявністю метаболічного синдрому» присвячений вивченню впливу МС на експресію молекулярних маркерів OPN та ON у пухлинній тканині хворих на РПЗ. Автором охарактеризовано складний механізм впливу МС на рівень експресії цих маркерів, який включає порушення метаболізму глюкози та ліпідів, активацію сигнальних шляхів та запальні процеси, що можуть впливати на прогресію захворювання.

Визначено, що рівень експресії OPN та ON суттєво підвищується у пацієнтів з РПЗ, особливо за наявності МС, що корелює з високим ризиком розвитку кісткових метастазів. Продемонстровано, що показники експресії цих маркерів можуть слугувати специфічними прогностичними критеріями для оцінки ризику прогресії захворювання та розвитку метастазів у пацієнтів з РПЗ, що має важливе клінічне значення для визначення тактики лікування та початку превентивної терапії.

Проте, для остаточного підтвердження отриманих результатів необхідні подальші дослідження на більших когортах пацієнтів, а також вивчення механізмів, що лежать в основі взаємозв'язку між МС, експресією OPN та ON та розвитком кісткових метастазів.

Розділ 5 «Роль епігенетичної ланки у промоції розвитку кісткових метастазів раку передміхурової залози при наявності чи відсутності метаболічного синдрому» присвячений дослідженню впливу епігенетичних біомаркерів, зокрема мікроРНК-29b та мікроРНК-181a, на розвиток кісткових метастазів у пацієнтів з РПЗ залежно від наявності МС. Отримані дані свідчать, що показники експресії досліджених мікроРНК асоціюються зі ступенем злоякісності пухлинного процесу та можуть слугувати маркерами прогнозування ризику розвитку кісткових метастазів.

Здобувачем встановлено, що у пацієнтів з високим рівнем мікроРНК-29b та низьким рівнем мікроРНК-181a спостерігається значно вищий ризик розвитку кісткових метастазів, особливо за наявності МС. Продемонстровано, що рівень експресії мікроРНК-29b та мікроРНК-181a може використовуватись для оцінки ризику прогресії захворювання та прийняття клінічних рішень щодо превентивної терапії у пацієнтів з РПЗ. Дані дослідження підкреслюють важливість врахування епігенетичних маркерів у клінічній практиці для оптимізації лікування пацієнтів з РПЗ та метаболічним синдромом.

Розділ 6 «Економічна ефективність використання молекулярно-біологічних маркерів для прогнозування ризику прогресії раку передміхурової залози з наявним метаболічним синдромом» присвячений вивченню впливу застосування молекулярно-біологічних маркерів на прогнозування перебігу та визначення тактики лікування хворих на РПЗ з МС. Доведено, що визначення експресії OPN та ON є економічно вигідним, що дозволяє не тільки знизити витрати на подальше лікування, але й підвищити якість життя пацієнтів, забезпечуючи більш тривалу працездатність і зменшення фінансового навантаження на державу.

У розділі 7 «Узагальнення та обговорення результатів дослідження» дисертантом проведено аналіз і узагальнення власних результатів дослідження з урахуванням літературних даних. На основі отриманих даних у результаті комплексного дослідження ідентифіковано кореляції між наявністю МС та агресивністю перебігу РПЗ з розвитком кісткових метастазів. Обґрунтовано, що підвищений рівень експресії матрицелюлярних протеїнів (OPN та ON) та циркулюючих мікроРНК-29b і мікроРНК-181a є важливими прогностичними маркерами ризику прогресії РПЗ, особливо за наявності МС. Автором зроблені висновки та положення, що виносяться на захист, обґрунтовані, логічно впливають із отриманих даних і відповідають поставленим меті і задачам.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи були представлені та обговорені на численних вітчизняних і закордонних конференціях, зокрема: науково-практичній конференції «МОВЕМБЕР- 2020» (25 - 26 листопада 2020 р., м. Київ); науково-практичній конференції «МОВЕМБЕР 2021» (25 - 26 листопада 2021, м. Київ); науково-практичній конференції «Досягнення та перспективи розвитку онкології в Україні. Погляд молодих вчених» (4 лютого 2022 р., м. Київ); науково-практичній конференції «МОВЕМБЕР 2022» 24-25 листопада 2022, м. Київ); Way Science 2nd International Scientific and Practical Internet Conference «Актуальні клініко-морфологічні підходи до діагностики кісткових метастазів у пацієнтів на рак передміхурової залози» (4-5 травня 2023, онлайн); SIU Annual Meeting - 43nd Congress of the Société Internationale d'Urologie (11-14 October 2023 Istanbul, Turkey); науково-практичній конференції «MOVEMBER - 2023» (10-11 листопада 2023, м. Київ); Конгресі СОУУ-2024: «Досягнення і перспективи в лікуванні пухлин та захворювань сечостатевої системи» (19-20 квітня 2024, м. Київ).

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності

Згідно з експертним висновком ІЕПОР ім.Р.Є.Кавецького про перевірку на наявність академічного плагіату станом на 17.05.2024 року у дисертаційній роботі не виявлено ознак академічного плагіату, фальсифікації та інших порушень, що свідчить про самостійний характер виконаного дослідження. Усі цитування джерел зроблено з дотриманням чинних норм законодавства.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача

Під час рецензування дисертації було виявлено певні зауваження щодо її оформлення, які, хоч і не є суттєвими, не впливають на загальну цінність роботи, а мають на меті лише доповнити та вдосконалити її.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації:

1. Дисертація в цілому відповідає вимогам до оформлення. Однак, необхідно ретельно перевірити правильність оформлення посилань на використані джерела, особливо в списку літератури. Деякі посилання можуть потребувати уточнення формату згідно з ДСТУ 8302:2015

2. Висновки роботи чітко відображають результати дослідження, але варто перевірити, чи всі твердження у висновках безпосередньо випливають з аналізу даних. Це допоможе підвищити обґрунтованість роботи.

Запитання до здобувача:

1. Чи можна використовувати показники експресії матрицелюлярних протеїнів для прогнозування ризику виникнення метастазів у кістки при раку молочної залози?

2. Яке прогностичне значення рівня матрицелюлярних протеїнів у сироватці крові хворих на РПЗ?

3. Чи можна використовувати розроблений алгоритм формування груп середнього та високого ризику РПЗ для прогнозування ризику виникнення рецидиву захворювання у пацієнтів без МС?

4. Що відомо з даних літератури про прогностичне значення пухлинно-асоційованих мікроРНК -29b та -181a у хворих на РПЗ?

Висновок щодо відповідності дисертації вимогам «Порядку присудження наукових ступенів» до дисертації на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація «Підвищення ефективності ранньої діагностики метастазів у кістки скелету при раку передміхурової залози» Тимошенка Андрія Вячеславовича є самостійним і завершеним науковим дослідженням, яке містить науково обґрунтовані результати, що мають значний внесок у сучасну онкологію. Дисертант продемонстрував високий рівень компетентності, володіння методологією наукової та

педагогічної діяльності, а також здатність розв'язувати актуальні наукові завдання. Одержані результати мають практичне значення і впроваджені в клінічну практику, що підтверджує їх значущість та відповідність сучасним вимогам до дисертаційних робіт.

За методичним рівнем виконання та обсягом проведених досліджень дисертаційне дослідження відповідає наказу МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. №40 та положенню Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (зі змінами, внесеними згідно із постановою Кабінету Міністрів України №341 від 21.03.2022р. та постановою Кабінету Міністрів України №502 від 19.05.2023р.), а його автор заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент
д. мед. н., професор,
професор кафедри онкології
Івано-Франківського
національного медичного
університету

Володимир ГОЛОТЮК



ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ	
ЗАСТУПНИК РЕКТОРА (НАЧАЛЬНИК ВІДДІЛУ КАДРІВ)	
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ	
«04»	2024 р.
Підпис	<i>[Signature]</i>
Прізвище	ЗАМІК