

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Рибіна Андрія Ігоровича

**«Оптимізація медикаментозного лікування хворих на рак яєчників:
медико-біологічні основи прогнозування та подолання
платинорезистентності», представлену на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.07 – онкологія**

Актуальність обраного напрямку. Вивчення проблеми прогнозування та подолання платинорезистентності раку яєчників (РЯ) і розробка ефективних методів лікування є одним із пріоритетних напрямів сучасної онкології. Загально визнаним стандартом лікування РЯ (NCCN, ESMO) залишається поєднання хірургічного та хіміотерапевтичного методів лікування. Незважаючи на високу частоту повних регресій, досягнутих при поширеному раку яєчників із застосуванням комбінацій хіміотерапії на основі препаратів платини, у більшості хворих розвиваються рецидиви захворювання. Залежно від термінів прогресування хвороби прийнято виділяти платинорефрактерні пухлини (прогресують під час хіміотерапії першої лінії з включенням препаратами платини), платинорезистентні (прогресують впродовж 6 місяців після хіміотерапії першої лінії з включенням препаратів платини) і платиночутливі (прогресують через 6 місяців після закінчення хіміотерапії першої лінії пухлини, що). Майже 30% пацієток з РЯ є платинорезистентними або платинорефрактерними.

Проте, незважаючи на глибоке вивчення окремих аспектів цього питання, дотепер проблема подолання платинорезистентності при РЯ нерозв'язана. Дослідники пропонують різні моделі прогнозування платинорезистентності, з використанням клініко-морфологічних, молекулярно-генетичних, імунологічних та біохімічних критеріїв. Втім, жоден з запронованих алгоритмів прогнозування не підтвердив ефективності в клінічних умовах.

Актуальним питанням залишається виділення сучасних прогностичних чинників платинорезистентності для оптимізації лікування хворих на РЯ.

Дисертаційна робота Рибіна А. І. присвячена вирішенню важливої наукової проблеми сучасної онкології – підвищення ефективності комбінованого лікування хворих на рак яєчників шляхом індивідуалізації лікувальної тактики за рахунок розробки і застосування патогенетично обґрунтованого алгоритму прогнозування чутливості до препаратів платини.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є закінченим самостійним науковим дослідженням і реалізацією ідей автора, який проаналізував наукову літературу, визначив мету й завдання, розробив методологію дослідження, обґрунтував основні положення та теоретичні узагальнення, практичні рекомендації та сформулював висновки. Провів анкетування хворих, збір, аналіз і узагальнення клінічного матеріалу, статистичну обробку й порівняльний аналіз власних результатів. Дисертант об'єктивізував актуальність вирішення проблеми та формування концепції прогнозування платинорезистентності, проводив оперативні втручання й динамічне спостереження за хворими. В публікаціях у співавторстві реалізовані наукові ідеї здобувача.

Наукова новизна дослідження та отриманих результатів полягає в тому, що на підставі проведеного дослідження автором вперше науково обґрунтовано стратегію медикаментозного лікування хворих на РЯ шляхом застосування алгоритму прогнозування чутливості до препаратів платини та визначено комплекс молекулярно-біологічних показників злякисного росту РЯ, асоційованих із ступенем чутливості до платиновмісної хіміотерапії.

Доповнено наукові дані про роль клініко-анамнестичних, генеалогічних та морфологічних характеристик у формуванні чутливості РЯ до препаратів платини.

Вперше показано, що обтяжений репродуктивний анамнез (безплідність, синдром втрати плода, ускладнення вагітності та пологів, аборти, мертвонародження) асоціюються з резистентністю до препаратів платини. Визначено, що у більшості хворих з платинорезистентними пухлинами онкологічні захворювання мали близькі родичі по висхідній лінії та сибси.

Уточнено частоту поліморфізму генів BRCA1, BRCA2, MLH1, MSH2 та CAS 20q13 у пацієток з РЯ та їх зв'язок з чутливістю до препаратів платини.

Доповнено наукові дані щодо цитогенетичних особливостей хромосомного апарату периферичної крові лімфоцитів у пацієток з різною чутливістю до препаратів платини. Найбільша кількість аберантних клітин була зафіксована у хворих з платинорефрактерними пухлинами. Визначено нестійкі сайти хромосом, характерні як для платинорезистентних/рефрактерних, так і платиночутливих форм РЯ.

Вперше вивчено особливості стану системи оксиду азоту в пацієток з РЯ з різною чутливістю до платиновмісної ХТ. Застосування диференційованої терапії дозволило подовжити термін виживаності хворих на РЯ на $(8,5 \pm 0,9)$ міс., покращити показники якості життя на 25–30 %, знизити в 1,5 раза частоту ускладнень хіміотерапії.

Показано достовірне зниження активності системи оксиду азоту та збільшення вмісту внутрішньоклітинної сірки у хворих, рефрактерних до препаратів платини.

Досліджено, що вміст нітратів у плазмі крові хворих, чутливих до препаратів платини вищий, аніж при платинорефрактерних та платинорезистентних пухлинах. Помірна активність NO-синтази в тканині пухлини виявлена лише у 15 (17,4 %) випадках платиночутливого РЯ та в жодному випадку – при платинорезистентних/рефрактерних варіантах РЯ.

Встановлено, що дефіцит оксиду азоту у хворих на РЯ поєднується із зниженням експресії катехоламінів та активацією системного окисного стресу з порушеннями обміну пуринів у вигляді гіперурикемії.

Вперше визначено зв'язок вмісту VEGF та pAkt зі ступенем чутливості РЯ до препаратів платини: у пацієток з платиночутливими РЯ вміст VEGF був найнижчим. Експресія рецепторів VEGFR-1 та VEGFR-2 на пухлинних клітинах в групах порівняння достовірно не відрізнялась.

Досліджено, що вміст pAkt у пухлинних клітинах платинорезистентного та платинорефрактерного РЯ був достовірно вищим.

Вперше у хворих на РЯ визначено комплекс маркерів, асоційованих з чутливістю до препаратів платини як на рівні організму (генетична обтяженість, активність катехоламінів, ступінь гіперурикемії), так і на рівні пухлини (активність синтази NO, активність експресії циклінів E та D).

Вперше запропоновано засоби корекції дизрегуляційних порушень у хворих на РЯ та клінічно доведено їх ефективність у подоланні платинорезистентності.

Практичне значення отриманих результатів в тому, що на основі дослідження розроблена, апробована і впроваджена в лікувально-діагностичний процес методика прогнозування ефективності платиновмісної хіміотерапії у хворих на РЯ, що надає можливість підвищити показники безрецидивної виживаності та покращити якість життя хворих на РЯ. Впровадження алгоритму диференційованого застосування комплексної ХТ у хворих на РЯ в післяопераційному періоді дозволило оптимізувати тактику клінічного ведення пацієнтів. Доведено, що застосування L-аргініну та НІРЕС у хворих з резистентним до платини РЯ дозволяє покращити віддалені результати лікування. Отримані результати впроваджено в клінічну практику Національного інституту раку, обласних клінічних лікарень, обласних онкологічних диспансерів, що засвідчено 21 актом на впровадження.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, наукових висновків та практичних рекомендацій. Наукові положення, висновки та практичні рекомендації логічно витікають з отриманих результатів,

є достовірними та обґрунтованими, оскільки базуються на адекватному методологічному підході, достатньому за обсягом клінічному матеріалі – дисертаційна робота ґрунтується на результатах дослідження 539 хворих на РЯ III–IV стадій. Розробка і застосування патогенетично обґрунтованого алгоритму прогнозування чутливості пухлини до препаратів платини повністю розкрито в 8 завданнях. Використано комплекс сучасних методів обстеження – загальноклінічні, інструментальні, морфологічні, гістологічні та імуногістохімічні, імуноферментний, молекулярно-генетичні, міжнародні критерії оцінки якості життя хворих (шкали SF-36, EORTC QLQ-C30, D); методи статистичного аналізу.

Загальна кількість пацієнтів, залучених у дослідження, надала можливість автору в кожному з фрагментів роботи сформулювати адекватні групи та підгрупи пацієнтів. Загалом методичний рівень відповідає сучасному рівню методів наукового дослідження.

Висновки та практичні рекомендації дослідження узгоджуються зі змістом дисертаційної роботи, обґрунтовані та достовірні, мають наукове та практичне значення.

Отже, тема і завдання дисертації є актуальними для сучасної онкології, а дисертаційна робота виконана в межах державних планових наукових досліджень.

Відомості про повноту публікацій. Результати дисертаційного дослідження оприлюднено на наукових і вітчизняних форумах, викладено у 61 публікації, у т. ч.: 41 стаття у провідних фахових рецензованих вітчизняних виданнях, 8 – у наукових міжнародних; 9 – у матеріалах і тезах конференцій; отримано патент України на винахід та 2 патенти України на корисну модель. Практичні рекомендації чітко визначають спрямування наукових результатів на впровадження в клінічну практику.

Відповідність змісту дисертаційної роботи вказаній спеціальності.

Зміст дисертаційної роботи Рибіна А. І. «Оптимізація медикаментозного лікування хворих на рак яєчників: медико-біологічні основи прогнозування та подолання платинорезистентності» відповідає спеціальності 14.01.07 – онкологія.

Оцінка змісту дисертації. За структурою дисертація є традиційною, відповідає вимогам ДАК, викладена українською мовою на 354 сторінках машинопису; складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, 7 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, додатків; ілюстрована 51 таблицею, 61 рисунком; список літератури налічує 391 джерело (176 кирилицею та 215 латиницею).

Основний зміст розділів та результати роботи представлено у відповідних публікаціях, підтверджено патентами на винахід та корисну модель, автореферат повністю розкриває зміст у дисертації та логічно і стисло відображає її положення, висновки та практичні рекомендації.

У вступі автор обґрунтовує актуальність проблеми, зв'язок з державними науковими програмами, мету, об'єкт, предмет дослідження, наукове та практичне значення результатів та особистий внесок, апробацію дисертації, публікації.

Вступ містить необхідну інформацію, істотних зауважень немає.

Розділ 1 «Сучасний стан проблеми лікування хворих на рак яєчника. Огляд літератури», який складається з 4 підрозділів, містить відомості про епідеміологію, загальні принципи лікування та прогнозування клінічного перебігу раку яєчників. Автор ґрунтовно проаналізував сучасні та фундаментальні джерела вітчизняної та зарубіжної наукової літератури і основну увагу сконцентрував на розвитку новітніх знань у галузі медико-біологічних основ лікування хворих на РЯ та необхідності удосконалення існуючих методів хіміотерапії і розробки нових стратегічних підходів до тактики їх лікування.

Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження» містить вичерпну інформацію щодо методології дослідження, загальної характеристики пацієнтів, дизайну та критеріїв залучення хворих, алгоритму обстеження, лікування та спостереження на двох етапах – ретроспективному та проспективному.

На ретроспективному етапі було обстежено 189 пацієток з аденокарциномою яєчників III–IV стадії, яким після циторедуктивної операції в післяопераційному періоді проведено хіміотерапію з препаратами платини. На підставі проведеного аналізу цієї групи хворих розроблено алгоритм індивідуального прогнозу чутливості пухлини яєчника до платиновмісних схем хіміотерапії.

На проспективному етапі проведено обстеження та лікування 350 пацієток з РЯ III–IV стадії, яким також були виконані циторедуктивні операції: до 1 групи (група контролю) увійшли хворі на РЯ (n=50), які отримали ад'ювантну хіміотерапію з препаратами платини; до 2 групи (основної) – 300 хворих, розподілених за алгоритмом індивідуального прогнозування чутливості раку яєчників до ХТ препаратами платини на 3 підгрупи: I підгрупа (n=77) – з передбачуваною платинорефрактерністю, яким лікування було розпочато з ХТ без препаратів платини; II підгрупа (n=98) – з передбачуваною платинорезистентністю, яким на фоні ХТ з препаратами платини була проведена корекція саногенетичних порушень і дизрегуляційної патології препаратом L-аргінін; III підгрупа (n=125) – з передбачуваною чутливістю до препаратів платини, пролікованих схемами ХТ з препаратами платини (відповідно до стандартів).

Застосовували сучасні методи дослідження. Визначали активність оксиду азоту у яєчниковій тканині хворих, на кожному хвору заповнювали клініко-генеалогічну карту, проводили молекулярно-генетичні дослідження мутації генів BRCA, у 90 пацієток в пухлинній тканині імуногістохімічним методом визначали експресію білків HER2, Vcl-2, p53, сурвівіну, фолістатину, nm23-НІ, RB2/p130, факторів росту VEGF, EGF, циклінів D та E, рецепторів REGF, у сироватці крові методом рідинної хроматографії визначали вміст

катехоламінів, а колориметричним методом – сечової кислоти. В лікуванні застосовували інфузійну, ендоабдомінальну хіміотерапію та гіпертермічну хіміоперфузію.

В дисертації використані сучасні методи біостатистики. Оцінку і порівняння виживаності проведено з використанням актуального аналізу за методом Каплана–Майєра, багатофакторний аналіз представлений з чітким зазначенням критеріїв вибору параметрів, умотивовано вибір використаних параметричних і непараметричних тестів, наведено 95 % довірчий інтервал і значення використаних статистичних критеріїв, а не лише значення рівня вірогідності (достовірності) відмінностей. Усі розрахунки статистичних критеріїв були виконані за допомогою пакету програм Statistica 10.0.

У розділі 3 «Клініко-анамнестична характеристика хворих на РЯ, залучених до ретроспективного дослідження» зроблено важливі висновки щодо наданої клініко-анамнестичної характеристики хворих на рак яєчника, залучених до ретроспективного дослідження, сформовані критерії виокремлення пацієнтів до подальших етапів дослідження.

У розділі 4 «Молекулярно-генетичні особливості хворих на РЯ, залучених до ретроспективного дослідження» на першому етапі проведено порівняльний аналіз клініко-анамнестичних характеристик і факторів ризику розвитку РЯ та проаналізовано молекулярно-генетичні особливості хворих на рак яєчника, залучених до ретроспективного дослідження.

У розділі 5 «Вивчення показників дизрегуляційної патології на рівні організму у хворих на РЯ ретроспективної групи» наведено результати дослідження маркерів дисфункції нітрергічних систем (активність NOS *in situ*, вміст нітратів у крові та сечі), активності перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), функціонального стану регуляції клітинної проліферації (рівень білку p53), рівень експресії катехоламінів, стан системи протеолізу, баланс електролітів, рівень урікемії, експресія про- та протизапальних цитокінів тощо. У всіх пацієнток визначено помірну гіперурікемію з тенденцією до більш високих значень за платинорефрактерного та платинорезистентного РЯ; характерні

зміни в активності катехоламінів та адренергічних систем організму, синтезу оксиду азоту та асоційованих з ними проявами гіперекспресії білку p53, активація ПОЛ та помірна гіперурикемія. На основі встановлених зв'язків автор спрямовує подальший науковий пошук у площину визначення специфічності змін цих маркерів дизрегуляційної патології залежно від ступеня чутливості РЯ до препаратів платини.

У розділі 6 «Особливості молекулярного профілю пухлин у хворих на РЯ ретроспективної групи» автором визначено асоціацію тяжкості перебігу захворювання з вмістом SS-SH-груп у тканині пухлини. Доведено, що перебіг захворювання та стійкість до препаратів платини залежать від того, чи пов'язані SS-SH-групи з ліпідними з'єднаннями. Дисертант припускає, що збільшення активності SS-SH-груп пов'язане з формуванням та розвитком резистентності до хіміотерапії препаратами платини. Для підтвердження цього положення проведено дослідження на проспективному етапі, з глибоким аналізом отриманого масиву даних та пошуком прихованих закономірностей та значущих маркерів прогнозу перебігу захворювання.

У розділі 7 «Оцінка токсичних ефектів лікування хворих на рак яєчників ретроспективної групи» проаналізовано ускладнення, нефротоксичні реакції з помірно вираженим сечовим синдромом, підвищенням вмісту креатиніну, сечовини та сечової кислоти у сироватці крові, що спостерігали з другого тижня ПХТ, а комплексне лікування препаратами з антиоксидантами та детоксикацій ними властивостями дозволяє значно підвищити профіль безпеки і значно зменшити кількість несприятливих побічних ефектів.

У розділі 8 «Обґрунтування алгоритму відбору пацієнтів для проспективного етапу дослідження», автор обґрунтував та додатково до маркерів прогнозу платинорезистентності включив в алгоритм відбору пацієнтів: генетичну обтяженість (наявність мутантних алелів поліморфізмів BRCA1 5832insC та BRCA2 6174delAG у гетеро- та гомозиготному варіанті, мікросателітної нестабільності), високу активність циклінів D та E, підвищення рівнів катехоламінів, високий ступінь експресії NO *in situ*, ступінь

гіперурикемії, активність експресії рецепторів епідермального фактора росту та активність експресії CAS 20q13. Автор довів виняткову доцільність проведення медикаментозної корекції донаторами оксиду азота, антиурикемічними засобами у жінок з наявністю вказаних факторів.

У розділі 9 «Клініко-анамнестична характеристика хворих на РЯ, залучених до проспективного дослідження», що складається з двох підрозділів «Загальна характеристика контингенту хворих» та «Аналіз клінічних та параклінічних даних у пацієток на проспективному етапі після розподілу за рівнем прогнозованої чутливості до препаратів платини», автор послідовно наводить загальну характеристику хворих, аналізує дані клінічних та параклінічних досліджень у пацієток на проспективному етапі після розподілу за рівнем прогнозованої чутливості до препаратів платини. Дисертантом вірогідної різниці між сформованими основною та контрольною групами за клінічними, анамнестичними характеристиками та факторами ризику не було виявлено.

Отже, у 8 та 9 розділах, які є заключними серед розділів власних досліджень, обґрунтовано засади нової стратегії з оптимізації медикаментозного лікування та диференційованого призначення схем комбінованої терапії шляхом застосування алгоритму виявлення чутливості до похідних платини з урахуванням медико-біологічних основ прогнозування чутливості та подолання платинорезистентності.

Розділ 10 «Аналіз та узагальнення результатів», у якому детально обговорено та узагальнено результати дослідження, надає можливість у цілому охопити масштабний науковий доробок дисертанта, простежити логічну послідовність дослідницьких кроків ретроспективного й проспективного етапів, усвідомити основні положення, їх зв'язок з наступними висновками.

Автор проаналізував власні результати з урахуванням досягнень у галузі молекулярної біології і теоретичної онкології та розробленої молекулярно-генетичної концепції із застосуванням патогенечно обґрунтованого алгоритму прогнозування чутливості пухлини до препаратів платини, за якою

фармакологічний ефект є результатом складної взаємодії між лікарським засобом і морфологічними та молекулярними структурами пухлинних клітин. Розділ містить узагальнення основних наукових результатів та обґрунтування висновків, які цілком відповідають поставленим завданням. Обговорення результатів логічне й послідовне, цілком відображає сутність і вагомість виконаної роботи.

Дисертація закінчується 8 висновками, практичними рекомендаціями та 3 додатками, у яких містяться й акти впровадження. У висновках подано найважливіші наукові та практичні результати. Висновки та практичні рекомендації послідовно витікають з отриманих результатів досліджень і є логічним завершенням роботи. Вірогідність одержаних результатів підтверджена їх адекватною статистичною обробкою.

Практичні рекомендації скеровують онкологів, онкогінекологів, хіміотерапевтів до раціональної корекції саногетичних порушень дизрегуляційної патології у хворих з прогнозованою чутливістю до препаратів платини.

В авторефераті в повному обсязі розкрито основний зміст дисертаційної роботи. Оформлення дисертації цілком відповідає чинним вимогам.

Зауваження. Окремі стилістичні та термінологічні неузгодження є незначними, не перешкоджають правильному сприйняттю викладеного матеріалу та результатів не знижують загальної високої оцінки роботи. У результаті обговорення з дисертантом зауважень, що виникли під час вивчення дисертаційної роботи, більша частина зауважень була врахована та виправлена. Принципових зауважень до дисертаційної роботи не маю.

У ході рецензування дисертаційної роботи виникло кілька запитань:

1. Як можна пояснити достовірно вищу частоту рівня pAkt в пухлині хворих з платинорезистентним та платинорефрактерним РЯ, а також вищий вміст нітратів у плазмі крові хворих з платиночутливим РЯ?

2. Чим зумовлене достовірне зниження активності системи оксиду азоту та збільшення вмісту внутрішньоклітинної сірки у хворих з аденокарциномою яєчників, рефрактерних до препаратів платини?

3. На Вашу думку, чи можливе подолання платинорезистентності у хворих на РЯ у найближчому майбутньому, якщо так, то за рахунок чого? У чому вбачаєте перспективу подальших досліджень платинорезистентності?

Висновок

Дисертаційна робота Рибіна Андрія Ігоровича на тему «Оптимізація медикаментозного лікування хворих на рак яєчників: медико-біологічні основи прогнозування та подолання платинорезистентності» є закінченою, самостійною науковою працею, у якій розроблені та обґрунтовані наукові положення, сукупність яких можна кваліфікувати, як нове вирішення актуальної наукової проблеми – підвищення ефективності комбінованого лікування хворих на рак яєчників шляхом індивідуалізації тактики лікування та розробки і застосування патогенетично обґрунтованого алгоритму прогнозування чутливості до препаратів платини.

Дисертаційна робота Рибіна Андрія Ігоровича за актуальністю, теоретичним і практичним значенням, обсягом, формою та повнотою викладених наукових результатів повністю відповідає вимогам п. 10 “Порядку присудження наукових ступенів”, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, які висуваються до робіт, поданих на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук із спеціальності 14.01.07 – онкологія.

Офіційний опонент –
завідувач науково-дослідного відділення
хіміотерапії солідних пухлин
Національного інституту раку,
доктор медичних наук

Підпис *Сивак Л.А.* засвідчує
Вчений секретар Національного інституту
раку *А.А. Дзедиківська Н.М. 1*



Сивак Л. А.