

ВІДГУК

офіційного опонента професора Фецича Тараса Григоровича на дисертаційну роботу

Бурлаки Антона Анатолійовича

“Метаболічні та стромальні предиктори метастатичного колоректального раку із метакронним ураженням печінки: контроль раннього прогресування, обґрунтування методології комбінованого лікування” представлену до спеціалізованої Вченої ради Д 26.560.01 на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.07 – «Онкологія», 22 – Охорона здоров'я, (222 – Медицина)

Актуальність теми

Хірургічна резекція пухлини залишається основним методом лікування колоректального раку. Однак у багатьох пацієнтів виникають рецидиви через дуже короткий час. Від 25% до 30% хворих на колоректальний рак, у яких не виявили метастатичного ураження внутрішніх органів під час діагностики, метастази розвиваються протягом 5 років. Дані експериментальних та клінічних досліджень демонструють, що стрес, спричинений хірургічним втручанням, є потужним фактором, що сприяє росту злокісних пухлин, тому що він є системним проявом, яке включає запалення, окисно-індуковані пошкодження ішемії-реперфузії, активацію симпатичної нервової системи та посилення вивільнення цитокінів, що значно збільшує ризик рецидиву КРР.

Клітини пухлини можуть поширюватися по периферичній крові (циркулюючі пухлинні клітини); мігрувати у кістковий мозок або лімфатичні вузли (дисеміновані пухлинні клітини), які здатні виживати та ініціювати ріст пухлини. Системна реакція організму на операцію може створити умови сприятливі для метастазування пухлини, викликаного тривалим періодом імуносупресії та активації молекул адгезії. При поширенні пухлинних клітин у нове середовище, вони можуть залишатися у спокої протягом кількох років чи навіть кількох десятиліть. Так звані “сплячі клітини” можуть “пробуджуватись” після оперативних втручань та ініціювати метастазування.

Актуальність обраної автором теми обумовлена тим, що згідно даних Національного канцер реєстру рак ободової та прямої кишки входить у 5-ку

найчастіше діагностованих онкопатологій України. У 2018 р. показник захворюваності склав близько 16,5 тис. хворих, половина з яких мало метастатичне ураження печінки за період спостереження. Розширені резекції печінки (більше 3 анатомічних сегментів) з приводу метастазів раку шлунково-кишкового тракту у тому числі і колоректального раку (мКРР) супроводжуються ризиком активації неконтрольованого пухлинного росту внаслідок активації процесів регенерації. Активація молекулярних шляхів проліферації клітин тканини печінки може викликати посилення швидкості метастазування та росту пухлини. Тому розуміння біології метастатичного процесу та процесу прогресування у досліджуваних хворих, пошук незалежних факторів прогнозу можуть допомогти покращити результати лікування метастатичних форм колоректального раку. Використання повного чи модифікованого маневру Прінгла під час “великих” резекцій печінки дозволяє знизити крововтрату, але ефект ішемії/реперфузії, що супроводжує таку хірургічну тактику може викликати активацію деструктивних каскадів молекулярних реакцій, медіаторами яких виступають супероксидні радикали, які утворюються під час реперфузії молекулярного кисню до ішемізованої тканини печінки. Пошкодження печінки впливом факторів ішемії/реперфузії є основною причиною виникнення дисфункції органів. Як відомо, супероксидні сигнальні шляхи постійно функціонують у всіх типах раку, приймаючи участь у рості/проліферації та диференціюванні клітин пухлини, синтезі білків, метаболізмі глюкози, виживанні клітин та процесах запалення. Отже, регенерація печінки в ранньому післяопераційному періоді може бути стимулом до активації росту дисемінованих клітин аденокарциноми мКРР, які неможливо виявити за допомогою стандартних методів обстеження хворих в клініці. Дисеміновані клітини аденокарциноми КРР, в яких невпинно продовжується процес проліферації на етапах комплексного/хірургічного лікування первинного новоутворення товстої кишки або резекції печінки з приводу метастазування призводять до прогнозованої клінічної маніфестації віддалених метастазів. Причини та молекулярні механізми індукування клітин аденокарциноми маловивчені, однак слід розуміти, що ініціація процесів росту

та прогресування відбувається за участі супероксидних радикалів та їх похідних в мітохондріях клітин пухлини та клітинах імунної системи (пухлиноасоційованих нейтрофілах та макрофагах). Метою цієї роботи було дослідити можливість корегування негативного онкологічного ефекту хірургічних маніпуляцій під час резекції печінки у хворих на мКРР, що є вкрай важливим.

Вважаю, що дисертаційна робота Бурлаки А. А. присвячена одній з найскладніших проблем онкології – покращанню результатів лікування хворих на метастатичний КРР і є актуальною і своєчасною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами, планами

Дисертаційна робота виконувалась у рамках планової науково-дослідної роботи Національного інституту раку «Розроблення нових методів комбінованого лікування хворих із метастатичними новоутвореннями черевної порожнини, заочеревинного простору та малого таза» (2017–2020 рр., шифр теми ВН.14.01.07.140-12, державний 0118U003734).

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше досліджено механізм пошкоджуючого впливу ішемії/реперфузії (маневр Прінгла) на клітини здорової тканини печінки під час виконання оперативних втручань у хворих на колоректальний рак із резектабельними формами метастатичного ураження печінки. Вперше розроблено та адаптовані принципи паренхімозберігаючої хірургії печінки при білобарному метастатичному ураженні печінки, у тому числі при метастазах у “тяжкодоступних сайтах” (праве венозне ядро, кавальні/портальні ворота, S1), оцінити онкологічну безпечність методу. Вперше встановлено групи ризику активації росту “прихованих” мікрометастазів мКРР в резектованій печінці. Вперше визначено наявність корелятивного зв'язку між функціональним статусом гепатоцитів, тривалістю ішемії/реперфузії, рівнем окисного стресу, показниками гострої печінкової недостатності та виживаністю хворих. На основі проведеного дослідження вперше визначено значущість рівнів експресії молекулярних маркерів ангіотензин II, NOX, НАДФ·Н-оксидази, рівнів окисної модифікації ДНК та активації матриксних металопротеїназ-2, матриксних

металопротеїназ-9 в тканині печінки в рамках проспективного дослідження. Вперше виконана оцінка функціонального стану гепатоцитів в прилеглий та віддаленій анатомічних зонах щодо строми метастатичного вогнища шляхом застосування електронного парамагнітного резонансу - спектроскопії та зимографії. Вивчена ефективність резекцій печінки при її метастатичному ураженні злякисними новоутвореннями не мКРР та не нейроендокринної природи. Розроблена методика профілактики пошкоджуючої дії ефекту ішемії/реперфузії. Розроблено та впроваджено методологію лікування хворих на метастатичний колоректальний рак із метастатичним ураженням печінки на основі отриманих кореляційних алгоритмів.

Практична значення отриманих результатів.

Особливістю дисертаційної роботи є її практична спрямованість на основі нових експериментальних розробок, адже автором розроблено та оптимізовано покращену методику хірургічного лікування мКРР. Впроваджені методи дозволили покращити онкологічні результати лікування хворих. Розкриття патофізіологічних механізмів взаємодії хірургічного стресу та молекулярних шляхів активації дисемінованих клітин аденокарциномв мКРР дозволило довести ефективність паренхімозберігаючої хірургії. Визначено панель предиктивних біомаркерів для контролю гострої печінкової недостатності та виживаності хворих. Адаптація розробленої хірургічної методики в клініці Національного інституту раку дозволила більш широко та безпечно застосовувати резекції печінки при КРР із метастатичним ураженням печінки в обласних онкологічних диспансерах, що збільшило кількість хворих, яким надали якісну високоспеціалізовану допомогу.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень,

висновків та рекомендацій

Робота виконана на високому науково-методичному рівні. Мета дослідження є чітко визначеною, завдання логічно сформульовані. Методи дослідження є сучасними, повністю відповідають завданням роботи. Основні положення дисертаційної роботи, висновки і рекомендації базуються на достатньому фактичному клінічному матеріалі. Дизайн дослідження включає

дослідження *in vivo*, фрагмент ретроспективного аналізу 285 клінічних випадків резекцій печінки з приводу метастатичного ураження КРР, які були оперовані в умовах Національного інституту раку з 2005 по 2015 р. Ретроспективні дані надані Національним канцер-реєстром України, інформаційно-аналітичним відділенням медичної статистики. Ретроспективний фрагмент включав порівняльну оцінку впливу принципів резекції печінки (анатомічноорієнтовані (n = 145) та атипові резекції (n = 142) на показники виживаності. Основний фрагмент роботи виконано в рамках проспективного одноцентрового когортного дослідження, куди включили 185 хворих на КРР із метастатичним ураженням печінки. Всі резекції печінки виконувались в умовах Національного інституту раку із січня 2015 по серпень 2020 р. Проспективне когортне дослідження зареєстровано в міжнародній базі (<https://www.researchregistry.com/browse-the-registry>) як «Parenchyma sparing liver surgery in colorectal cancer patients with metastasis in hard to reach anatomic sites». Проведення даного наукового дослідження схвалено Комісією з питань етики при Національному інституті раку

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті

За темою дисертаційної роботи опубліковано 56 наукових праць: наукові статті у вітчизняних та закордонних провідних наукових фахових журналах переліку ДАК МОН України та зареєстрованих у міжнародних наукометричних системах – 29; тези з'їздів і конференцій – 20; патенти на корисну модель України – 5; методичні рекомендації – 2.

Огляд результатів та висновків дисертації, аналіз дисертації за розділами

За структурою дисертація Бурлаки А.А. написана українською мовою на 371 сторінках машинопису і складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, 4 розділів результатів власного дослідження, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, додатків; ілюстрована 32 таблицями та 95 рисунками. Список використаних джерел містить 363 наукових публікації, у т. ч. 51 кирилицею та 312 латиницею.

У вступі автором визначена актуальність роботи, мета дослідження, якій відповідають всі поставлені завдання, наведена наукова новизна та практичне значення отриманих результатів, особистий внесок здобувача, матеріали апробації та публікації за темою дисертації.

У першому розділі дисертації охарактеризовано сучасний стан проблеми лікування КРР, на підставі комплексного аналізу представлених сучасних літературних джерел. Автор детально аналізує переваги і недоліки різних методів хірургічного лікування метастатичного КРР, провів аналіз проблеми ішемії/реперфузії. В огляді літератури розглянуто анатомо-фізіологічні аспекти хірургії печінки, методи контролю периопераційної крововтрати при виконанні трансекції печінки та стратегії резекцій печінки при її метастатичному ураженні колоректальним раком. Значну частину огляду літератури присв'ячено ролі супероксидних радикалів у механізмах ініціації та прогресуванні злоякісних пухлин та молекулярних шляхах відповіді стерильним запаленням на патологічний ефект ішемії-реперфузії та хірургічне пошкодження тканини печінки. Бурлака А.А. завершив огляд літератури аналізом стану паренхімозберігаючої хірургії у світі та обґрунтував обраний напрям дослідження. В цілому, вступ та огляд літератури написані критично та містять необхідну інформацію. зауважень не викликають.

У другому розділі “Матеріали та методи дослідження” автор приводить дизайн дослідження, критерії включення та не включення, клінічну характеристику хворих усіх етапів дослідження, клінічні, лабораторні та інструментальні методи дослідження, морфологічні та біофізичні дослідження, лікування і проспективне спостереження у хворих на метастатичний КРР. Описав дизайн дослідження молекулярних механізмів росту метастазів у печінці, регулювання ефектів ішемії/реперфузії. Матеріали розділу написані змістовно, з достатньою кількістю таблиць, рисунків, фото, схем. У клінічній характеристиці хворих достовірно доведена однорідність груп, що аналізуються. Описані методи статистичної обробки даних.

У розділі 3 “Дослідження *in vivo* впливу патологічного ефекту ішемії/реперфузії за умов росту пухлин МС38 та аденокарциноми Герена у

печінці тварин”. Результатом досліджень проведених у цьому розділі є встановлення механізму за яким ішемії/реперфузія сприяє неконтрольованому пухлинному росту та росту мікрометастазів, а саме шляхом активації порушення функціонування дихального ланцюга мітохондрій, зростання швидкості генерування супероксидних радикалів та окисно-індукованого пошкодження ДНК. Автор отримав дані про те, що ішемія/реперфузія у печінці сприяє метастазуванню у печінку, індукуючи генерування супероксидного радикалу мітохондріями гепатоцитів, як у відключених від кровопостачання, так і в не відключених частках печінки. Кількість вузлів пухлини та зростання рівнів супероксидного радикалу через $\geq 45 \leq$ хв ішемії була більшою, ніж через ≤ 45 хв. Доведено, що навіть при відсутності оклюзії портального притоку крові, оксигенація печінки значно знижується під час мобілізації/ретракції органа та його підготовки до трансекції паренхіми, що призводить до додаткового пошкодження та загибелі гепатоцитів. Гемореологічні ефекти застосованих спротивредуючих полімерів забезпечили посилення мікроциркуляторної перфузії та оксигенації тканин печінки, зниження рівнів швидкості генерування супероксидних радикалів та окисноіндукованих мутацій ДНК гепатоцитів. Застосування нанодоз спротивредуючого полімеру дозволило попередити неконтрольований пухлинний ріст як карциноми Герена у печінці щурів, так і аденокарциноми MC38 у печінці мишей MC57BL, що проявляється у зниженні швидкості пухлинного заміщення та вираженості некробіотичних змін умовно-здорової паренхіми печінки. Автор вважає, що подальші експериментальні та клінічні дослідження цих речовин дозволять знизити ризики активації неконтрольованого пухлинного росту в печінці внаслідок патологічного ефекту післяопераційної ішемії-реперфузії.

Розділ 4 “Паренхімозберігаюча стратегія при метастатичному ураженні печінки: когортне проспективне дослідження”. Виконаний на матеріалах 185 хворих на КРР з метастатичним ураженням печінки. Проведений аналіз розподілу хворих за кількістю видалених метастатичних вогнищ в групах порівняння центральний сайт печінки та периферично локалізовані метастази не продемонстрував достовірної відмінності: медіана склала відповідно 6 (1–

16) та 7 (2–19) метастазів для центрального сайту печінки та периферично локалізованих метастазів ($p = 0,16$). Солітарні метастази видалили у 22 (11,8 %) хворих, 9 (11,5 %) групи центрального сайту печінки та 13 (12,3 %) у групі порівняння ($p=0,9$). При цьому білобарне метастатичне ураження було виявлено у 29 (37,2 %) та 31 (28,9 %) хворого відповідно центрального сайту печінки та периферично локалізованих метастазів ($p = 0,24$). Волюметрія метастатичної тканини оперованих пацієнтів підтвердила однорідність досліджуваних груп, де медіана об'єму метастатичної тканини склала 259 (12–1865) см³ в групі центрального сайту печінки та 216 (3–2210) см³ в групі периферично локалізованих метастазів, $p = 0,23$. Було виявлено, що у половини (50 %) хворих групи центрального сайту печінки метастатичне ураження носило синхронний характер, тоді як у хворих периферично локалізованих метастазів цей показник склав 64 (59,8 %), $p = 0,18$. Відповідно метакронні метастатичні вогнища оперували у 50 % та 40,2 % випадках. Післяопераційні тяжкі ускладнення зареєстровано у 19 (24,4 %) та 17 (21,8 %) хворих відповідно для груп порівняння, $p = 0,15$ (табл. 4.2). Не було зареєстровано відмінностей у групах за рівнем гепатоспецифічних ускладнень, останній склав 7 (8,9 %) та 5 (4,6 %) для центрального сайту печінки та периферично локалізованих метастазів відповідно ($p = 0,3$). У групі з центрально локалізованими метастазами гостра печінкова недостатність не перевищувала ступінь А та була виявлена у 5 (6,4 %) оперованих хворих. Для групи периферично локалізованих метастазів, гостра печінкова недостатність в ранньому післяопераційному періоді діагностували у 8 (7,5 %) та 1 (0,9 %) випадках відповідно ступеня А та В. Серед тяжких гепатоспецифічних ускладнень, найчастіше реєстрували жовчну норицю та білому. Медіана загальної тривалості теплової ішемії (рис. 4.3) під час трансекції паренхіми печінки була значно вищою у групі центрально локалізованих метастазів – ($39 \pm 25,8$) хв порівняно з групою периферично локалізованих метастазів – ($15 \pm 18,05$) хв ($p < 0,001$).

Рівень смертності за 90-денний період склав 1,3 % та 0,9 % для хворих групи центрального сайту печінки та периферично локалізованих метастазів відповідно. Аналіз отриманих даних віддалених результатів за Kaplan–Meier та

Сох показав, що 3-річна загальна кумулятивна виживаність для 185 хворих на КРР незалежно від розподілу на групи склала $(54 \pm 7) \%$, тоді як середнє значення виживаності склало $(34,9 \pm 1,7) \%$, (95 % ДІ: 31,5–38,3). На момент виконання аналізу медіана виживаності не була досягнута.

Встановлено, що тривалість ішемізації ≥ 45 хв тканин достовірно погіршує показники загальної кумулятивної виживаності хворих на КРР. Так, рівні виживаності 185 оперованих хворих незалежно від групи порівняння в когортах, де маневр Прингла не використовували (тривалість ішемії – 0 хв ($n = 52$), в когорті із тривалістю ішемії < 45 хв ($n=94$) та ≥ 45 хв ($n=39$) рівень загальної 3-річної кумулятивної виживаності склав (49 ± 21) міс., (59 ± 8) міс. та (31 ± 13) міс. відповідно ($p=0,04$). Середні значення кумулятивної виживаності для аналогічних когорт КРР склали – $(37,8 \pm 2,7) \%$ (95 % ДІ: 32,4–43,3); $(53,5 \pm 6,9)$ (95 % ДІ: 49,7–57,2) та $(22,1 \pm 4,3)$ (95 % ДІ: 13,5–30,4), ($p = 0,04$).

Провівши ретроспективний аналіз Бурлака А.А. встановив, що атипові резекції мають задовільні онкологічні результати (5-річна кумулятивна виживаність склала $(40 \pm 5) \%$ та $(33 \pm 6) \%$ відповідно для групи атипових та анатомічних резекцій, $p = 0,03$). Розроблені принципи паренхімозберігаючої хірургії дозволяють безпечно та ефективно видаляти метастатичні вогнища в межах правого венозного ядра печінки, портального та кавального конфлюенсу, паракавальної та каудальної частин S1, глибоких сайтах S4, S5, S8 центральних сайтах печінки (ускладнення \geq III ступеня склали 24,4 % та 21,8 % в групах центрального сайту печінки та периферично локалізованих метастазів відповідно, $p = 0,15$; 90-денна летальність склала 1,2 %). Резекція центральних сайтів печінки за принципами паренхімозберігаючої хірургії дозволила 193 запобігти розвитку гострої печінкової недостатності та синдрому «малої печінки» (великі резекції печінки склали 6,4 % в групі центрального сайту печінки). Реалізація паренхімозберігаючої хірургії для хворих із метастатичним ураженням центрального сайту печінки призводить до підвищення імовірності реалізації ререзекцій печінки у випадку неконтрольованого росту мінімальної залишкової хвороби в оперованій печінці (кількість ререзекцій склала 54/81 в групах центрального сайту печінки / периферично локалізованих метастазів).

Адаптація паренхімозберігаючої хірургічної стратегії у хворих із множинним (медіана кількості видалених метастатичних вогнищ складала 7 (2– 15) білобарним ураженням печінки продемонструвала онкологічну безпеку (3-річна загальна та безрецидивна виживаність склали $(53 \pm 9) \%$ та $(31 \pm 8) \%$ відповідно). Стратегія резекції пухлини чи метастазів у поєднанні із сучасними схемами поліхіміотерапії може бути ефективним методом, який зменшить когорту нерезектабельних хворих (3-річна безрецидивна виживаність для хворих групи центрального сайту печінки із краєм резекції пухлини чи метастазів ($n = 24$) / R0 ($n = 54$) складала відповідно $(25 \pm 13) \%$ / $(33 \pm 9) \%$ ($p = 0,36$).

4.2. Ішемія оперованої печінки – фактор онкологічного прогнозу хворих на метастатичний колоректальний рак.

У цьому підрозділі дисертант досліджував ефекти ішемії-реперфузії у печінці, яка виникає на різних етапах резекцій і залежить від хірургічної техніки та мети оперативного втручання. Автор провів аналіз клінічних даних за останні 10 років із архіву історій хвороби та Національного канцер-реєстру на базі Національного інституту раку. До аналізу були включені хворі на КРР із метакронним метастатичним ураженням печінки ($n = 125$). Метою даного аналізу була демонстрація можливості покращення онкологічного прогнозу у оперованих хворих на КРР. Хворих розділили на 2 групи: група А ($n = 61$) – хворі на мКРР, резекція печінки яких проводилась без застосування маневра Прінгла; група В ($n = 64$) – хворі на КРР, резекція печінки яких проводилась в умовах повного чи часткового маневра Прінгла. Досліджувані групи не мали статистично значущих відмінностей за віком, статтю та стадією захворювання, кількістю курсів хіміотерапії, рівнем РЕА. Також не було відмінностей за типом резекції печінки. Групи хворих не мали статистично достовірної відмінності за кількістю метастазів та їх максимільним діаметром (табл. 4.7). Великих резекцій печінки було виконано: в групі А – 45 (73,7 %), у групі В – 49 (76,5 %) $p = 0,27$. Медіана об'єму інтраопераційної крововтрати складала 640 мл та 495 мл відповідно для груп А та В ($p = 0,24$). Трансфузію компонентів крові виконували з однаковою частотою в групах А та В: периопераційно медіана

кількості доз еритроцитарної маси склала 2 (1–6) та 1 (0–4) відповідно ($p = 0,46$); медіана кількості доз свіжозамороженої плазми в ранньому 195 післяопераційному періоді склала 1 (0–5) і 1 (0–3) відповідно для обох груп хворих ($p = 0,21$). Медіана тривалості маневра Прінгла в групі В склала ($27 \pm 14,6$) хв. Результати ретроспективних досліджень дисертанта демонструють наявність негативного впливу маневра Прінгла та патологічного ефекту I/P на онкологічний та загальний прогноз оперованих хворих на мКРР. Резекції печінки з приводу метастатичного ураження КРР є методом контролю перебігу захворювання. Отримані автором результати свідчать про потенційно негативний вплив патологічного ефекту ішемії-реперфузії на виживаність хворих на КРР, медіана тривалості життя для груп із застосуванням маневра Прінгла та без нього склала відповідно ($24,03 \pm 3,7$) міс. та ($37,8 \pm 3,6$) міс., ($p = 0,05$), що потребує подальших досліджень. Ішемія оперованої печінки може бути новим фактором онкологічного прогнозу та індикатором якості хірургічного лікування (медіана виживаності хворих склала ($25,61 \pm 5,2$) міс., ($24,07 \pm 4,7$) міс., ($14,03 \pm 2,9$) міс. та ($27,87 \pm 9,4$) міс. для груп А (ішемія оперованої печінки+), В (ішемія оперованої печінки -), В (ішемія оперованої печінки +) та А (ішемія оперованої печінки -) відповідно ($p = 0,03$).

Розділ 5 “Патологічний ефект ішемії-реперфузії: відновлення функції, онкологічний вплив” присвячений дослідженню маркерів, які можуть дозволити оцінити швидкість відновлення функціонування гепатоцитів, зокрема функціональний стан електронотранспортного ланцюга (ЕТЛ, NO-FeS-білки) мітохондрій (цитохром P-450 (окиснена та низькоспінова форми) та загальноприйнятих молекулярних маркерів цитолізу та детоксикаційної функції гепатоцитів (аланінамінотрансфераза), білірубін та лактат крові у тканині оперованої печінки). Дослідження проведені на 114 хворих на КРР, яким виконали резекції печінки за принципами паренхімозберігаючої хірургії. Показано, що динаміка змін рівня аланінамінотрансферази в плазмі крові оперованих пацієнтів на 1-шу, 3-тю та 5-ту післяопераційні доби склала відповідно ($178,8 \pm 151,5$) ($26-72$) од/л; ($135,3 \pm 111,7$) ($13-552$) од/л; та $75,6 \pm 68,8$ ($431-68,8$) од/л. Для оцінки рівня гіпоксії та токсичного ураження органу

визначали рівень лактату на системному (сироватка венозної крові впродовж перших 24 год з моменту завершення операції) та тканинному (умовно-здорові паренхіма оперованої печінки в межах 1 год з моменту завершення трансекції) рівнях. Так, рівень лактату в крові та тканині печінки склали відповідно $(1,8 \pm 0,6)$ $(0,8-3,9)$ ммоль/л та $(2,1 \pm 0,4)$ $(1,1-3,9)$ мкМ/г тканини. Вивчали також показники залізо-сірчаніх білків (Fe S кластерні протеїни), що несуть безліч функцій в дихальному ланцюгу мітохондрій, зокрема синтез вільних радикалів кисню і регулювання родини матриксних металопроїназ. Проведено вивчення рівня оксиду азоту та модифікованих FeS кластерних білків, які утворюються внаслідок високої спорідненості із радикальними формами оксиду азоту. Дисертантом виявлено статистично значущу відмінність показників досліджуваних молекулярних маркерів, що відповідають за функціонування дихального ланцюга мітохондрій в когортах хворих, де тривалість нормо-ішемії була ≥ 45 хв, із хворими які мали меншу тривалість ішемізації – < 45 хв чи взагалі її не мали (0 хв). Такий розподіл використали, враховуючи дані регресійного аналізу за Коксом, що продемонстрував достовірну відмінність виживаності серед груп оперованих хворих на КРР залежно від тривалості нормо-ішемії. В розділі 4 показано наявність прямого впливу на показники виживаності оперованих хворих на КРР тривалості нормо-ішемії та патологічного ефекту ішемії-реперфузії під час маневру Прінгла.

Виявлено, що тривалість нормо-ішемії потенціює порушення функціонування електронно-транспортного ланцюга мітохондрій та корелює з вираженими порушеннями функціонування гепатоцитів вже при ≥ 45 хв (кінцевий результат мультіваріаційного рівняння показав наявність стійкого негативного зв'язку тривалості нормо-ішемії печінки з рівнем низькоспінового цитохрому P-450 $(-44,26 \pm 13,97)$ (95 % ДІ: -72,01 до -16,52) та NO-модифікованих Fe-S білків $(-25,05 \pm 13,92)$ (95 % ДІ: -52,71 до 2,61)

У підрозділі “Перспективні патогенетичні мішені для корегування патологічного ефекту ішемії-реперфузії при резеціях печінки” було проведено дослідження дослідження рівнів швидкості генерування супероксидного радикала, активації родини желатиназ (матриксна металопроїназа-2 та

матриксна металопротеїназа-9), рівні швидкості генерування оксиду азоту (NO) та окисного пошкодження однієї з 5 основних азотистих основ ДНК, гуаніну (8-оксогуанін та -оксогуанозин). Рівні супероксидного радикалу, NO, матриксна металопротеїназа-2 та матриксна металопротеїназа-9 визначали безпосередньо в паренхімі оперованих, рівень 8-оксогуаніну визначали в сечі пацієнтів на першу, 3 та 5 післяопераційні доби. Методом електронного парамагнітного резонансу в умовах низькотемпературної стабілізації зразків (Т 77К) проведено дослідження зразків метастатичної тканини, прилеглої та тканини печінки, відпрепарованої на відстані ≥ 5 см від пухлинного вузла (післяопераційний матеріал), що була оперована при нормоїшемії різного ступеня. В спектрах електронного парамагнітного резонансу здорової тканини печінки виявляються сигнали електронного парамагнітного резонансу $g=1,94$, які характеризують стан електронтранспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій (залізо-сірчані білки Комплексу I, НАДН-дегідрогенази 1a); 211 сигнал електронного парамагнітного резонансу $g = 2,00$ – рівень флаво-убісемініону, основного переносника електронів в електронно-транспортному ланцюгу; сигнал електронного парамагнітного резонансу з $g=2,03$ – рівень комплексів NO FeS-білок; сигнал електронного парамагнітного резонансу з $g=2,25$ і $g=2,42$ – рівень активності цитохрому P-450 (CYP) в редокс циклі системи детоксикації гепатоцитів; сигнал електронного парамагнітного резонансу з $g=2,65$ – рівні вільного заліза; сигнал електронного парамагнітного резонансу з $g=4,25$ – рівень лактоферину, трансферину і які функціонують в процесі окисного метаболізму в мітохондріях. Виходячи із отриманих результатів досліджень у цьому розділі Бурлака А.А. робить наступні заключення. У тканині метастатичних вогнищ, прилеглий до неї та умовно здоровій паренхімі оперованої печінки, виявлено дефекти електронтранспортного ланцюга мітохондрій, що формує дисфункцію органел $R2 = 0,54 \text{ 95 \% ДІ:}0,037 - 0,091$ ($p < 0,01$). Встановлено, що тканина метастазу та печінки, що його оточує, характеризується активацією джерел генерування редокс-молекул: CP, NO та матриксна металопротеїназа-2, матриксна металопротеїназа-9, аналогічна з такими самими показниками в тканині печінки на відстані 5 см. Формування

метастатичного мікрооточення в печінці забезпечуються CP- та NO-активацією матриксної металопротеїнази і ремоделюванням міжклітинного матриксу, з одного боку, та зростанням швидкості генерування супероксидного радикала та накопичення 8-оксогуаніну, які є сигналом для активації проліферативних процесів у клітинах, з іншого боку. Показано, що середні показники виживаності оперованих хворих залежать від рівня швидкості генерування супероксидного радикала мітохондріями гепатоцитів хворих на КРР. Встановлено, що статистично значущий вплив на рівні швидкості утворення 8-оксо-2-деоксигуанозину в організмі хворих мали об'єм метастатичної тканини в печінці ($p=0,037$), тривалість теплової ішемії під час трансекції паренхіми печінки ($p = 0,001$) та тривалість оперативного втручання ($p = 0,006$). Досліджені показники редокс-стану печінки, оперованої з приводу метастазів КРР, можуть бути використані для оцінки функціонального стану органів та тканин віддаленого метастазування, ризиків виникнення рецидивів онкологічних захворювань та удосконалення терапевтичних підходів.

У розділі 6 “Паренхімозберігаюча хірургія печінки та альтернативні стратегії резекції” складається із 4 підрозділів. У першому підрозділі, який називається “Двоетапна розширена резекція S2 печінки із резекцією лівої печінкової вени, збереженням S3 та вени умбілікальної щілини, паренхімозберігаюча хірургія правого венозного ядра печінки”, автор довів, що паренхімозберігаюча хірургія є ефективною як метод, що нівелює ризики гострої печінкової недостатності, синдрому малої печінки і, разом з тим, онкологічну безпеку. Він вважає, що успішною резекцією слід розглядати таку, яка привела до збереження адекватної відсоткової частки відповідно до маси тіла пацієнта ($30\text{--}40\%$ від загального об'єму функціонуючої паренхіми печінки чи індекс співвідношення об'єму перспективного озалишку печінки (см^3)/маса тіла (кг) $\geq 0,8$) та має не тільки адекватний притік крові через систему печінкової артерії та порталної вени, але й ефективне дронування її в систему нижньої порожнистої вени. Уникнення венозної конгестії, що викликає дисфункцію, потенціює реакцію запалення та регенерацію, а в найгірших випадках – некроз тканин, що слід враховувати при плануванні

паренхімозберігаючої хірургії. Загальноприйнятою хірургічною тактикою при метастатичному ураженні S2 печінки, з одночасною інвазією в зоні устя основної лівої печінкової вени (ЛПВ), вважають резекцію лівої латеральної секції печінки (S2, S3). Резекція S2, S3, а не тільки S2, у таких випадках була обґрунтована ризиками венозної конгестії для паренхіми третього сегмента. Адаптована в рамках виконання дисертаційної роботи стратегія паренхімозберігаючої хірургії дозволила розробити альтернативний хірургічний підхід, що передбачає виконання розширеної анатомічної резекції S2 печінки з резекцією лівої печінкової вени із збереженням S3 за рахунок дренажування крові через вену умбілікальної щілини. Автор приводить клінічний випадок нестандартизованої резекції печінки у хворого К. на КРР із метакронним метастатичним ураженням печінки, який отримав комбіноване лікування в 2019 р. в клініці № 1 Національного інституту раку.

У підрозділі 6.2. “Системна розширена задня правобічна секціонектомія – паренхімозберігаюча альтернатива правобічній гемігепатектомії” дисертант досліджує системну розширену задню правобічну секціонектомію (СРЗПС) як альтернативну хірургічну техніку, що передбачає виконання системного видалення задньої секції печінки із дорсальною частиною передньої секції S5d та S8d. Адаптований та використаний паренхімозберігаючий хірургічний метод в рамках дисертаційної роботи, який виконано в 11 клінічних випадках за період з 2018 по 2020 рр. Показами до такого виду резекцій є поширення пухлини (метастазу) на праву печінкову вену не дистальніше, ніж 4 см від гепато-кавального конфлюенсу, з одночасним ураженням паренхіми S6 та S7 (рис. 6.7). Важливо перед початком транссекції виконати іУЗД з оцінкою порталного кровотоку в глісоновій ніжці S6, у випадку перетискання правої печінкової вени та ознак гепато-фугального кровотоку. У випадку варіативної анатомії (присутність нижньої правої печінкової вени) слід розглядати можливість збереження паренхіми S6. За період виконання дисертаційної роботи автором успішно виконано 11 оперативних втручань за принципами системи розширення задньої правобічної секціонектомії: у 10-ти випадках – з приводу метастатичного ураження КРР, у 1-го хворого – з приводу

гепатоцелюлярної карциноми. Такий підхід забезпечив збереження більшої частини паренхіми передньої секції печінки, зокрема вентральної частини S5 та S8 (S5v, S8v) порівняно з класичною стратегією (правобічна гемігепатектомія). У таких хворих нівелювали прояви гострої печінкової недостатності та синдрому малої печінки. Вважаємо вагомим той факт, що застосування такого принципу хірургії дозволило уникати складних судинних інтервенцій.

Підрозділ 6.3. “Одномоментна системна розширена задня правобічна секціонектомія з резекцією дорсального субсегмента S1d” Це альтернативна хірургічна стратегія в рамках паренхімозберігаючої хірургії, що передбачає виконання вже попередньо описаної інтервенції системи розширення задньої правобічної секціонектомії, та відрізняється тим, що виконується повна мобілізація підпечінкового сегмента нижньої порожнистої вени по типу Piggy-back на рівні дорсальної (паракавальної) частини S1d та її подальша резекція. Автор представляє успішний клінічний випадок хворої С. з метакронним білобарним метастатичним ураженням печінки (11 метастатичних вогнищ).

Підрозділ 6.4. “Субсегментектомія S8d та паренхімозберігаючі резекції лівої долі печінки”.

Контакт метастаза(ів) з магістральними судинами печінки та ураження її центральних сайтів призводить до призначення довготривалого системного протипухлинного лікування, що покращує медіану виживаності хворих на КРР на 6–8 міс. Водночас адаптація паранхімозберігаючої терапії та стратегія R1v скелетизації, у поєднанні із сучасними схемами ХТ та таргетної терапії, дозволяють оперувати хворих, яких не розцінювали перспективними для хірургії за класичними критеріями резектабельності. Дисертантом представлено клінічний випадок субсегментектомії S8d та паренхімозберігаючих резекцій правої долі печінки. Тривалість нормо-ішемії під час транссекції склала 45 хв, крововтрата 155 мл. Післяопераційний період протікав гладко, хворий виписаний на 5 післяопераційну добу. Післяопераційний безрецидивний період спостереження склав > 24 міс., без ознак прогресування в зоні виконаної скелетизації судинних структур та в паренхімі в цілому.

Варто зазначити, що застосування R1 скелетизії до цього часу не входить в стандарти лікування для хворих із метастатичним ураженням КРР. Однак все більше передових центрів країн Євросоюзу та США демонструють доцільність застосування такого хірургічного підходу, формуючи локальні консенсуси. В даних клінічних випадках продемонстровано ефективність альтернативної хірургічної стратегії, у тому числі двоетапну паренхімозберігаючу резекцію печінки, без застосування складних методів гіпертрофування печінки. Такий підхід став можливим тільки завдяки застосуванню прогресивної хірургічної техніки R1v скелетизації, застосування іУЗД навігації з метою чіткого розуміння судинної анатомії 1–4 порядку.

В кінці розділу автор робить висновки в яких зазначає, що паренхімозберігаюча хурургічна техніка дозволяє успішно виконувати повне видалення множинних білобарних метастазів без застосування емболізації портальної вени. Системна розширена задня права секціонектомія – нова та ефективна ПЗХ резекція, що дозволяє виконувати повне видалення метастатичних вогнищ, навіть при білобарному та центральному метастатичному ураженні печінки. ПЗХ стратегія дозволяє виконувати менш травматичні та безпечні резекції печінки при КРР.

У розділі 7 “Узагальнення та аналіз результатів дослідження” дисертант зробив аналіз отриманих результатів та обговорив їх.

Недоліки, зауваження і питання.

Суттєвих недоліків у дисертаційній роботі та в авторефераті не виявлено. Робота залишає позитивне враження від оформлення роботи. Автор застосував сучасні методи статистичної обробки результатів.

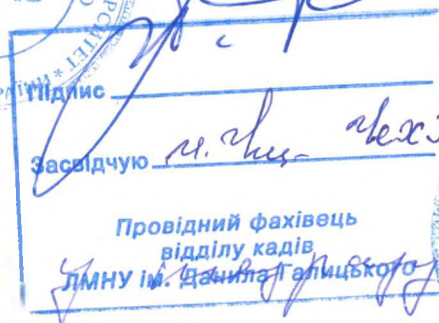
У процесі роботи над дисертацією у мене виникли запитання:

1. Які із досліджених редокс-залежних маркерів є перспективними для контролю патологічного впливу хірургічного стресу?
2. Отримані Вами результати регулювання патологічних наслідків ішемії/реперфузії є науково обгрунтованими і переконливими. Що вже сьогодні Ви можете рекомендувати для використання в онкологічній клініці?

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Бурлаки Антона Анатолійовича “Метаболічні та стромальні предиктори метастатичного колоректального раку із метакронним ураженням печінки: контроль раннього прогресування, обґрунтування методології комбінованого лікування” є самостійним закінченим науковим дослідженням, у якому вирішується важливе та актуальне наукове завдання – покращання результатів лікування хворих на мКРР. Робота базується на достатньому обсязі клінічного матеріалу, застосовані сучасні методики дослідження, обстеження та лікування. Оформлення і структура дисертації та автореферату повністю відповідають встановленим вимогам. За актуальністю, науковою новизною, практичною значимістю результатів, обсягом досліджень та ступенем достовірності висновків дисертаційна робота Бурлаки Антона Анатолійовича “Метаболічні та стромальні предиктори метастатичного колоректального раку із метакронним ураженням печінки: контроль раннього прогресування, обґрунтування методології комбінованого лікування” повністю відповідає вимогам пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року (зі змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 року та № 1159 від 30.12.2015 року, № 567 від 27.07.2017 року та вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 року), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук із спеціальності 14.01.07 – онкологія.

Завідувач кафедри онкології і радіології ФПДО
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького
д.мед.н., професор



Вісник науковий
17.02.20
Вл. секретар