

## ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора, **Сорокіна Богдана Вікторовича** на дисертаційну роботу кандидата, **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.** Новітні протоколи лікування та сучасна ефективна хіміотерапія дозволили значно розширити когорту хворих на колоректальний рак із метастатичним ураженням печінки (мКРР), яким можливо здійснити R0-резекцію печінки. Слід виділяти окрему когорту хворих на мКРР із білобарним множинним метастатичним ураженням, коли резекція печінки супроводжується високим ризиком гострої печінкової недостатності внаслідок видалення значної кількості паренхіми органу. З метою запобігання таким загрозливим післяопераційним ускладненням була запропонована тактика двох-етапної резекції (ДЕР) печінки. Недоліками такого підходу вважають прогресування хвороби після першого етапу («dropout») і, як наслідок, таким хворим не виконують повне видалення метастазів. З метою зниження ризику неконтрольованого прогресування хвороби після першого етапу ДЕР, була розроблена стратегія асоційованого розсічення печінки та лігування портальної вени (associating liver partition and portal vein ligation (ALPPS)) та розширені резекції печінки із ультразвуковою навігацією. ALPPS продемонструвала зниження кількості незавершених оперативних втручань проте досі асоціюється із високим рівнем післяопераційної летальності та смертності. Тоді як паренхімозберігаючі резекції печінки під контролем ультразвукової навігації потенційно можуть дозволити видалити метастази навіть при ураженні “глибоких зон” венозного ядра правої долі печінки, що має потенціал покращити віддалені результати лікування хворих мКРР. А пошук новітніх молекулярних маркерів, що будуть предикторами перебігу метастатичного процесу, дозволить вдосконалити алгоритм хірургічного та комбінованого лікування.

Враховуючи всі приведені дані вважаю, що дисертаційна робота А.А. Бурлаки присвячена вирішенню комплексних задач в онкології – покращанню безпосередніх та віддалених результатів лікування хворих на мКРР.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, темами, планами.** Дисертаційна робота є фрагментом планових науково-дослідних робіт Національного інституту раку «Розробити методи хірургічного та ад'ювантного лікування хворих на злоякісні пухлини органів черевної порожнини» (номер державної реєстрації 0115U000810, шифр теми ВН.14.01.07.140-12, 2015–2017 рр.) та «Розроблення нових методів комбінованого лікування хворих із метастатичними новоутвореннями черевної порожнини, заочеревинного простору та малого таза» (номер державної реєстрації 0118U003734, шифр теми ВН.14.01.07.140-12, 2018–2020 рр.).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Автор дисертації вперше науково довів хірургічну ефективність паренхімозберігого підходу для метастатичних вогнищ, локалізованих в центральних сайтах печінки. Також А.А. Бурлака вперше встановив онкологічну безпеку хірургічної стратегії ПЗХ печінки для видалення метастатичних вогнищ в межах ЦСП. Було поглиблено наукові дані щодо методики судинної скелетизації із досягненням статусу краю резекції R1v.

Виконавши дисертаційну роботу, Антон Анатолійович Бурлака вперше довів, що патологічний ефект ішемії-реперфузії сприяє пухлинному росту *in vivo* шляхом активації порушення функціонування дихального ланцюга мітохондрій та зростання швидкості генерування супероксидних радикалів і як наслідок ініціації окисних процесів. Більше того, дисертант показав, що гемореологічні ефекти спротивредуючих полімерів забезпечили зниження швидкості генерування супероксидних радикалів та окисно-індукованих мутацій ДНК гепатоцитів і попереджують неконтрольований пухлинний ріст.

Вперше визначено, що норма-ішемія тривалістю  $\geq 45$  хв при ПІР потенціює порушення функціонування електронно-транспортного ланцюга

(ЕТЛ) мітохондрій та корелює з вираженими порушеннями функціонування гепатоцитів. Вперше показано, що норма-ішемія та реперфузія виявляють онкологічний вплив, оскільки 3-річна кумулятивна виживаність оперованих хворих на КРР, стратифікована за рівнем супероксидних радикалів у оперованій печінці.

Таким чином, у дисертаційній роботі А.А. Бурлаки представлено наукове обґрунтування та нове вирішення актуальної для сучасної медицини, зокрема онкології, проблеми – поліпшення безпосередніх та віддалених результатів лікування у хворих на колоректальний рак із метастатичним ураженням печінки шляхом адаптації паренхімозберігаючої хірургії, розробки та використання редокс-залежних предикторів пухлинного прогресування.

**Практична значення отриманих результатів.** Виконана дисертаційна робота має практичну спрямованість на основі нових експериментальних розробок, тому що 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 паренхімозберігаючого хірургічного підходу. Визначено панель предиктивних біомаркерів для контролю гострої печінкової недостатності та виживаності хворих. Адаптація розробленої автором хірургічної методики в клінічну практику Національного інституту раку (м. Київ) та ряду онкологічних установ України.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій.** Методи дослідження є сучасними, повністю відповідають завданням роботи. Мета та завдання дослідження чітко визначені та сформуловані. Основні положення дисертаційної роботи, висновки і рекомендації базуються на достатньому фактичному клінічному матеріалі.

**Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті.** За матеріалами дисертації опубліковано 44 наукових праці: 29 статей (7 – у виданнях, що індексуються у наукометричній базі Scopus, 3 – у міжнародних); 10 – тези з’їздів, конгресів та конференцій; 1 – методичні рекомендації; 4 – патенти України на корисну модель.

**Огляд результатів та висновків дисертації, аналіз дисертації за розділами.** За структурою дисертація Бурлаки А.А. викладена 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.

Перший розділ (огляд літератури) дисертації викладено відповідно до теми дисертаційної роботи з урахуванням всіх завдань. Вивчена проблема ішемії-реперфузії, роль супероксидних радикалів, оксиду азоту та матриксних металопротеїназ у механізмах пошкоджуючого впливу на клітини печінки. Автор дисертації широко розглянув анатомо-фізіологічні аспекти хірургії печінки, методи контролю періопераційної крововтрати при виконанні трансекції печінки та стратегії резекцій печінки при її метастатичному ураженні КРР. Також описано проблему поширення та виживання клітин аденокарциноми колоректального раку в організмі хворого, як основній причині загибелі онкологічних хворих. Частина огляду літератури присвячено 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. Загалом до розділів вступ та огляд літератури зауважень немає.

Розділя “Матеріали та методи дослідження” прецизійно описано дизайн дослідження, критерії включення та виключення, перивинні та вторинні кінцеві точки дослідження, клінічну характеристику хворих усіх етапів дослідження, клінічні, лабораторні та інструментальні методи дослідження, морфологічні та

біофізичні дослідження, методи лікування. Добре описаний дизайн експериментальної частини досліджень на тваринах 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 порівняння.

У розділі 3 А. Бурлака детально розкриває проблему патологічного ефекту ішемії-реперфузії при пухлинному ураженні печінки. Базуючись на проведеному експерименті автор демонструє, що застосування спротивредуючих полімерів має потенціал до зниження гіпоксичного, та протуморогенного ефектів. Дисертант довів, що супероксидні радикали є ключовим регулятно-пошкоджуючим фактором в ішемії-реперфузії, який ініціює індукцію апоптозу гепатоцитів та інших клітин органу. Зауважень до даного розділу немає.

В Розділі 4, “Паренхімозберігаюча стратегія при метастатичному ураженні печінки: когортне проспективне дослідження”, приводяться результати аналізу паренхімозберігаючих резекцій у 185 осіб. Автор детально описує поширеність онкологічного процесу в групах, стратифікуючи хворих на когорти. Зокрема на основі волюметричних даних підтвердили однорідність досліджуваних груп, за показником об'єму метастатичної тканини. Також детально проаналізовано та представлено графічно отримані дані щодо способу виконання лапаротомії, статус краю резекції, частоту застосування судинної скелетизації при контакті із метастатичними утворами, тривалість операції та нормо-ішемізації, об'єм періопераційної крововтрати тощо. Описано принцип паренхімозберігаючих резекцій в групі Центральних сайтів печінки та те що він корелював із більш частим застосуванням стратегії Rlv скелетизації. Показано, що підхід було імплементовано у 24 (30,7 %) випадках при центральнолокалізованих метастазах та в 6 (5,6 %) групи ПЛМ ( $p = 0,001$ ). Дисертант вказує на перевагу тактики збереження паренхіми для центральних сайтів печінки, визначивши низький рівень гострої печінкової недостатності, що напротивагу при великих та анатомічно-орієнтованих резекціях стала основним ускладненням.

Безпечність центральних ПЗХ резекції А.А. Бурлака доводить також за відсутністю асоціації останніх з більшою крововтратою чи показником періопераційної гемотрансфузії а 1 (1,3 %) випадок смертності за 30-денний післяопераційний період був зареєстрований серед оперованих хворих групи ЦСП та був спричинений мезентеріальним тромбозом на 5-ту післяопераційну добу. Більше того, рівень смертності за 90-денний період склав 1,3 % та 0,9 % для хворих групи ЦСП та ПЛМ відповідно. Отже отримані дані беззаперечно демонструють перевагу ПЗХ хірургії з точки зору безпеки хворого.

Одним із найбільш вагомих результатів вважаю, те, що віддалені результати в групах порівняння довели онкологічну ефективність ПЗХ стратегії для метастатичних вогнищ в межах ЦСП. За даними які приводиться в даному розділі дисертації, а загальна 3-річна кумулятивна виживаність в групах порівняння ЦСП та ПЛМ склали  $(53 \pm 9) \%$  та  $(32,9 \pm 3,2) \%$ ,  $p = 0,23$ . Більше того, автор приводить додатковий аналіз впливу на виживаність методу видалення метастазу за розробленими принципами судинної скелетизації, коли відсутні рентгенологічні ознаки інвазії в стінку судинних структур 1-3 порядку. Де, 3-річна виживаність для когорт R0 та R1v склала  $(64 \pm 7) \%$  та  $(36 \pm 17) \%$  відповідно ( $p = 0,44$ ).

В Таблиці 4.4 автор приводить важливі результати однофакторно аналізу за Каплан-Мейєром та багатофакторно регресійного аналізу кумулятивної виживаності за Коксом. За уноваріантним аналізом ( $X^2 = 3,61$ ,  $p = 0,59$ ) та регресійною моделлю Кокса (Ехр. (В), 95 % ДІ: 0,78 ( $0,35 \pm 1,73$ ),  $p = 0,54$ ) загальна кумулятивна виживаність достовірно не залежала від переважної локалізації метастатичних вогнищ, а саме групи порівняння (ЦСП/ПЛМ). Автор показав, що пацієнти в групі ПЛМ мають кращі шанси загальної виживаності – 0,78 разів ( $p = 0,54$ ). За уноваріантним ( $X^2 = 2,35$ ,  $p = 0,14$ ) та мультіваріантним (Ехр. (В), 95 % ДІ: 2,8 ( $0,66 \pm 11,88$ ),  $p = 0,16$ ) аналізом виживаність 185 оперованих хворих не мала статистично достовірної залежності від ембріонального походження первинної пухлини, однак за мультіваріантним аналізом виявлено, що хворі із лівобічно локалізованими пухлинами мають ризик загинути в 2,8 рази більший, ніж із правобічно локалізованим КРР ( $p =$

0,16). Крім того, статус краю резекції (R0 / R1v) в уно- та мультиваріантному аналізах не показали достовірного впливу на виживаність ( $X^2 = 3,77$   $p = 0,52$ ), де показано, що пацієнти із краєм резекції R1v мають у 0,97 більше шансів померти порівняно з R0 ( $p = 0,94$ ). Також А.А. Бурлака демонструє, що не впливав на виживання і фактор розміру метастатичних вогнищ (уноваріантний аналіз:  $X^2 = 0,76$ ,  $p = 0,78$ ; мультиваріантний аналіз Exp. (B), 95 % ДІ: 1,3 ( $0,69 \pm 2,44$ ),  $p = 0,42$ ), де показано, що наявність метастатичних вогнищ  $\geq 50$  мм збільшує в 0,69 рази ризик погіршення виживаності порівняно з метастазами діаметром  $< 50$  мм ( $p = 0,42$ ).

Розділ 4.1. “Аналіз ретроспективних даних Національного канцер-реєстру України 2005–2015 рр.” дисертаційної роботи присвячено ретроспективному етапу, куди включено 287 хворих, яких було стратифіковано у 2 групи порівняння за характером виконаної резекції печінки: 145 хворих увійшло в групу анатомічних резекцій та 142 – в групу атипових резекцій. За результатами даного етапу, виявлено, що тяжкі ускладнення та післяопераційна смертність склали 31 (21,4 %) / 6 (4,2 %) та 13 (9,0 %) / 2 (1,4 %) відповідно для груп анатомічних/атипових резекцій ( $p < 0,05$ ). А швидкість післяопераційного відновлення хворих була гіршою серед хворих групи анатомічно-орієнтованих резекцій, тривалість перебування в умовах стаціонару склали 12 (6–35) діб та 8 (4–21) діб відповідно для когорти анатомічних та атипових резекцій, ( $p < 0,05$ ). В групі анатомічних резекцій зареєстрували гостру печінкову недостатність ступеня В та С у 9 (6,2 %) випадках, тоді як у групі порівняння даний вид ускладнення важкого ступеня не визначався. Повторна госпіталізація була достовірно частішою в групі анатомічних резекцій – 24 (16,6 %) проти 2 (1,4 %) випадків відповідно ( $p < 0,05$ ).

Незважаючи на ретроспективний характер автор демонструє важливі для медицини та онкології показники виживаності, де медіана загального виживання склали ( $48,6 \pm 4,7$ ) міс. та ( $32,2 \pm 42,6$ ) міс. відповідно для групи атипових та анатомічних резекцій ( $p=0,03$ ). При тому, що кількість хворих із білобарним метастатичним ураженням склали  $\leq 7$  %, а комбіновані резекції печінки із радіочастотною абляцією виконали в 25 (8,7 %). Провівши

ретроспективний дисертант 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,  $p=0,03$ ).

В кінці 4-го розділу автор приводить основоположні висновки: Розроблені принципи ПЗХ дозволяють безпечно та ефективно видаляти метастатичні вогнища в межах правого венозного ядра печінки, порталного та кавального конфлюенсу, паракавальної та каудальної частин S1, глибоких сайтах S4, S5, S8 центральних сайтах печінки. А реалізація ПЗХ для хворих із метастатичним ураженням ЦСП призводить до підвищення імовірності реалізації ре-резекцій печінки у випадку неконтрольованого росту мінімальної залишкової хвороби в оперованій печінці (кількість ре-резекцій склала 54/81 в групах ЦСП/ПЛМ). А методика Rlv скелетизації у поєднанні із сучасними схемами поліхіміотерапії може бути ефективним методом, який зменшить когорту нерезектабельних хворих.

Розділ 5. “Патологічний ефект ішемії-реперфузії: відновлення функції, онкологічний вплив” присвячений дослідженню маркерів, які дозволяють оцінити швидкість відновлення функціонування гепатоцитів. Розділ має велике значення, оскільки демонструє потенціал досліджуваних редокс-маркерів оперованих хворих. Зокрема у залишковій тканині печінки автором виявлено зниження ефективності функціонування системи детоксикації та енергозабезпечення гепатоцитів (рівні низькоспінової та окисненої форм цитохрому P-450). Показано, що тривалість нормо-ішемії потенціює порушення функціонування ЕТЛ мітохондрій та корелює з вираженими порушеннями функціонування гепатоцитів при  $\geq 45$  хв.

Далі в розділі “Перспективні патогенетичні мішені для корегування патологічного ефекту ішемії-реперфузії при резекціях печінки” було проведено дослідження рівнів швидкості генерування CP, активації родини желатиназ (ММП-2 та ММП-9), рівнів швидкості генерування оксиду азоту (NO) та окисного пошкодження однієї з 5 основних азотистих основ ДНК, гуаніну (8-оксогуанін та -оксогуанозин).



Автором було встановлено, що у тканині метастатичних вогнищ, прилеглий до неї та умовно здоровій паренхімі оперованої печінки, виявлено дефекти електронтранспортного ланцюга мітохондрій, що формує дисфункцію органел. Встановлено, що тканина метастаза та печінки, що його оточує, характеризується активацією джерел генерування редокс-молекул: супероксидних радикалів, радикалів NO та ММП-2, ММП-9, порівняно з такими самими показниками в тканині печінки на відстані 5 см<sup>3</sup>. Формування метастатичного мікрооточення в печінці забезпечуються СР- та NO-активацією матриксних металопротейназ і ремоделюванням міжклітинного матриксу, з одного боку, та зростанням швидкості генерування супероксидних радикалів 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 СР мітохондріями гепатоцитів хворих на КРР.

Розділ 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 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. Адаптована в рамках виконання дисертаційної роботи стратегія ПЗХ дозволила розробити альтернативний хірургічний підхід, що передбачає виконання розширеної анатомічної резекції S2 печінки з резекцією ЛПВ із збереженням S3 за рахунок дронування крові через вену умбілікальної щілини.

У підрозділі 6.2. “Системна розширена задня правобічна секціонектомія – паренхімозберігаюча альтернатива правобічній гемігепатектомії”. У цьому фрагменті роботи дисертант досліджує системну розширену задню правобічну секціонектомію як альтернативну хірургічну техніку, що передбачає виконання системного видалення задньої секції печінки із дорсальною частиною передньої

секції S5d та S8d. За період виконання дисертаційної роботи автором успішно виконано 11 оперативних втручань за принципами СРЗПС: у 10 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 ГПН та синдрому малої печінки.

В Підрозділі 6.4. “Субсегментектомія S8d та паренхімозберігаючі резекції лівої долі печінки” А.А. Бурлака показав, що контакт метастазу(ів) з магістральними судинами печінки та ураження її центральних сайтів в більшості випадків спонукають хірургів до планування анатомічних великих резекцій або розцінення клінічного випадку нерезектабельним. Останнє призводить до призначення довготривалого системного протипухлинного лікування, що покращує медіану виживаності хворих на КРР на 6–8 міс. Водночас адаптація ПЗХ 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 трансекції 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.

Роблячи висновок, щодо отриманих результатів у цьому розділі автор робить що розширена резекція 2-го сегмента печінки із резекцією ЛПВ та збереженням вени умбілікальної щілини є ефективним альтернативним паренхімозберігаючим підходом при резекціях печінки. А 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.

У розділі 7 “Узагальнення та аналіз результатів дослідження” Бурлака Антон Анатолійович виконав ретельний аналіз отриманих результатів, демонструючи глибоке розуміння проблеми, зауважень до розділу немає.

**Недоліки, зауваження і питання.** Суттєвих недоліків у дисертації не виявлено, робота залишає позитивне враження, кількість технічних помилок мінімальна.

У порядку дискусії вважаю за необхідне поставити автору наступні запитання:

1. Чи існують рандомізовані дослідження щодо порівняння онкологічної ефективності двоетапних резекцій печінки та одномоментних паренхімозберігаючих резекцій?
2. Як ви відноситеся до трансплантації печінки при колоректальному раку?

#### **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, де вирішується важливе та актуальне наукове завдання – покращання результатів лікування хворих на колоректальний рак із метастатичним ураженням печінки. 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.

Професор кафедри онкології  
НУОЗ України імені П. Л. Шупика,  
доктор медичних наук, професор

Б. В. Сорокін

*Бірюше*  
*Б. Сорокін*  
*засвідчує*  
*В. Рудак*



*Вулиця парківська 1*  
*26.02.2021р*

*Вл. Сергеев* *Лікар (Лікар Т.В.)*