

ВДГУК

офіційного опонента, Павлової Олени Олексіївни, доктора медичних наук, професора, професора кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету МОЗ України щодо дисертаційної роботи Пихтєєвої Олени Дмитрівни «Патогенетичні механізми системної токсичності при використанні гіпертермічної інтраопераційної інтраперитонеальної хіміоперфузії з цисплатином при канцероматозі очеревини (клініко-експериментальне дослідження)», подану до захисту у спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03 Харківського національного медичного університету на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія

1. Актуальність теми дисертації. Україна займає друге місце в Європі за темпами поширення раку. Перитонеальний канцероматоз (ПК), за різними даними, розвивається не менш ніж у 20-35 % хворих з первинними злоякісними пухлинами внаслідок трансцеломічного поширення клітин новоутворень інтраабдомінальних органів. Сучасні методи лікування, які включають хірургічне втручання та/або радіотерапію та/або хіміотерапію, здатні значно продовжити термін життя, але при цьому різко погіршується його якість, тому актуальною задачею є зниження системної токсичної дії хіміопрепаратів з максимальним збереженням протипухлинної дії. Її вирішення відбувається двома шляхами: це розробка нових класів препаратів та/або нових способів використання відомих цитостатиків. У світі проведення циторедуктивних операцій спільно з гіпертермічною інтраперитонеальною хіміоперфузією (НІРЕС), яка поєднує в собі локальне збільшення дози при внутрішньому введенні хіміопрепарату і гіпертермію НІРЕС стало визнаним стандартом. Вивченню патогенетичних механізмів системної токсичності при використанні НІРЕС з цисплатином при канцероматозі очеревини і присвячена ця робота, яка була розпочата з першим використанням цього методу лікування. Таким чином,

дисертаційна робота Пихтєєвої Олени Дмитрівни «Патогенетичні механізми системної токсичності при використанні гіпертермічної інтраопераційної інтраперитонеальної хіміоперфузії з цисплатином при канцероматозі очеревини (клініко-експериментальне дослідження)» є актуальною своєчасною і пріоритетною та відповідає сучасним напрямкам медичної науки.

2. Зв'язок теми дисертації з науковими програмами, плановими науковими дослідженнями.

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт, які виконувалися в ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України НДР «Удосконалення профілактики та лікування основних екозалежних та професійно обумовлених захворювань на основі вивчення особливостей їх етіології та патогенезу» (№ державної реєстрації 011611008822) та НДР «Розробка та обґрунтування підходів щодо зниження шкідливого впливу важких металів на довкілля та здоров'я населення при утилізації побутових та промислових відходів» (№ держреєстрації 011811001848). Фрагменти цих робіт присвячені дослідженню патогенетичних механізмів системної токсичності цисплатину при гіпертермічній інтраперитонеальній хіміоперфузії. Дисертант був співвиконавцем зазначених тем.

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

Дисертаційне дослідження Пихтєєвої Олени Дмитрівни виконане з використанням комплексу сучасних патофізіологічних, токсикологічних, біохімічних, хіміко-аналітичних, морфологічних, статистичних методів.

Експериментальна частина була проведена з використанням достатньої кількості тварин (статевозрілих самцях-щурах лінії Вістар з масою), які були розподілені на чотири групи. Положення та висновки, які представлені автором у дисертації є повністю обґрунтовані отриманими даними, логічно впливають з результатів дослідження і відповідають поставленим завданням.

Застосовані автором методи є адекватними, сучасними, високочутливими,

інформативними і загальноприйнятими. Вірогідність і відтворюваність отриманих результатів не викликає сумнівів і підтверджується адекватними, проведеними в повному обсязі, методами статистичного аналізу.

Матеріали проведених досліджень, фактологія кількісних статистично значущих вимірів та аналізів, базуються на комплексі об'єктивних, сучасних, експериментальних та клінічних досліджень. Невелика кількість обстежених пацієнтів (15) пояснюється новизною застосованої процедури, а зроблені клінічні висновки та спостереження підтверджені експериментально на лабораторних щурах.

4. Наукова новизна і теоретичне значення результатів, наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.

Наукова новизна дисертаційної роботи Пихтєєвої Олени Дмитрівни полягає у тому, що автором вперше доведена системна токсичність платини в умовах гіпертермічної інтраопераційної інтраперитонеальної хіміоперфузії з цисплатином, хоча розробники методу та апаратури НІРЕС стверджують про його безпеку і практичну відсутність побічної дії. В клінічних і експериментальних умовах встановлено кількісні токсико-кінетичні закономірності процесів накопичення та виведення платини при НІРЕС та його моделюванні.

Проведено експериментальне визначення біохімічних показників ефективності системи антиоксидантного захисту (на підставі визначення в тканині печінки і нирок вмісту продуктів ПОЛ та активності основних ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази, глутатіон пероксидази, глутатіон редуктази) після перфузії розчину ЦП кімнатної та підвищеної (моделювання НІРЕС) та показано, що в цілому простежується закономірність у спрямованості відхилень від контролю – підвищення малонового діальдегіду і зниження активності ферментів АОС, проте більш виразний ступінь ПОЛ-АОС дисбалансу за рахунок потенціювання токсичної дії цисплатину відбувався після НІРЕС.

Дисертанткою доведена можливість системного ураження організму

(печінки, нирок та ін.) за рахунок цитотоксичної дії ЦП, навіть протягом нетривалої експозиції, що підтверджується підвищенням вмісту кислої фосфатази – маркерного лізосомального ферменту в гомогенаті печінки і нирок, а також і сироватці крові, разом з креатиніном після НІРЕС з ЦП.

Підтверджено, що загальна токсична дія платини при НІРЕС менш виразна і відстрочена, у порівнянні з внутрішньовенному введені ЦП.

Доведено, що зміни мікроелементного гомеостазу при моделюванні НІРЕС з ЦП в паренхімі нирок і печінки щурів не ідентичні, що відображає органоспецифічність щодо їх балансу (вміст міді, кадмію, свинцю) і корелює з нефротоксичністю ЦП.

Вперше показаний індуктивний синтез металотранспортного білку металотіонеїну в печінці і нирках за рахунок активації транскрипційних факторів у відповідь на надходження в клітину токсичних металів у відповідь на внутрішньоочеревинне введення ЦП, що носить адаптогенний характер, проте це призводить не тільки до зниження токсичної дії платини, а й до зниження її протипухлинної активності.

Методами морфометрії показано, що при експериментальному моделюванні НІРЕС з ЦП в паренхімі печінки та нирок щурів спостерігаються ознаки дистрофії, виразність яких безпосередньо залежить від температури перфузійного розчину (застосування гарячого ЦП більш пошкоджує печінку, холодного – нирки).

Доведено, що температура перфузійного розчину (*in vitro*) сприяє накопиченню платини в паренхімі нирок і печінки, що відбувається за рахунок прискорення руху молекул, збільшення вірогідності контакту ЦП з придатними до зв'язування рецепторними сайтами на поверхні органів та більш глибокого проникнення в тканини, що є позитивним для лікування канцероматозу очеревини.

Дисертанткою вперше запропонована та патофізіологічно обґрунтована профілактично-лікувальна програма для зниження ризику нефротоксикозів при НІРЕС.

5. Теоретичне та практичне значення роботи.

Основна практична значущість результатів дослідження полягає у доведенні необхідності нефро- та гепатопротекторних процедур при проведенні гіпертермічної інтраопераційної інтраперитонеальної хіміоперфузії з цисплатином при канцероматозі очеревини, а також можливості оцінки чутливості пацієнта до хіміотерапії препаратами платини на підставі даних мінерального обміну, а саме вмісту міді в крові. Проведена робота дозволяє прогнозувати системну токсичність препаратів платини при НІРЕС в залежності від стану організму хворого, наявності та відсутності мікроелементозів та визначити обсяг нефро- та гепатопротекторних дій для запобігання розвитку важких ускладнень.

Теоретичні положення роботи використовуються в учбовому процесі на кафедрах патофізіології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці), Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, Одеського національного медичного університету, Харківського національного медичного університету, Івано-Франківського національного медичного університету; матеріали використовуються в науково-практичній діяльності Державного підприємства Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України (м. Одеса).

6. Структура, об'єм та зміст роботи.

Дисертаційна робота Пихтєєвої Олени Дмитрівни побудована за традиційним планом згідно вимог до кандидатських дисертацій. Робота побудована за традиційною схемою, викладена на 184 сторінках комп'ютерного набору. Основний текст – 123 стор., містить 18 таблиць та 29 рисунків; складається з анотації, вступу, аналітичного огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел (290 джерел, з них 80 – кирилицею і 210 — латиницею) і додатків. Позитивної оцінки заслуговує те, що текст дисертації за змістом,

стилістикою викладений та оформлений якісно. У тексті дисертації використана сучасна наукова термінологія.

7. Характеристика розділів роботи.

Анотація написана українською та англійською мовами згідно з встановленою формою.

В огляді літератури дисертантом проведено аналіз наукової літератури по даній проблемі і визначено сучасний стан досліджень. Автор проаналізувала достатню кількість літературних джерел, присвячених обраній науковій проблемі. Більшість джерел датується останніми п'ятьма роками. Дисертант наводить дані публікацій стосовно патофізіологічних механізмів виникнення перитонеального канцероматозу, методології та принципів використання НІРЕС при канцероматозі очеревини. Значна увага приділена особливостям протипухлинної та загальнотоксичної дії препаратів платини, в тому числі побічній дії, показанням та протипоказанням використання НІРЕС з препаратами платини. Авторка показала, що НІРЕС препаратами платини при перитонеальному канцероматозі є сучасним високотехнологічним методом хіміотерапії та дозволяє досягти більш високих локальних концентрацій платини, але токсикокінетика і токсикодинаміка платини і особливості системної токсичної дії при такому способі використання вивчені недостатньо. Існують суперечливі дані щодо механізмів транспорту та участі транспортних білків в формуванні платинорезистентності пухлин. Аналітичний огляд літератури показує добре володіння матеріалом, здатність аналізувати та узагальнювати і широку ерудицію авторки.

2-й розділ «Матеріали і методи дослідження»

Розділ містить опис обраних експериментальних моделей, в ньому відображається необхідна кількість тварин, умови їх утримання та виведення з експерименту, а також розподіл щурів-матерів та їхнього потомства за групами відповідно завданням дослідження, представлена характеристика серій експерименту. Автором наведений опис використаних у дослідженні патофізіологічні, токсикологічні, біохімічні, хіміко-аналітичні, морфологічні,

статистичні, що дозволяє оцінити обґрунтованість їх застосування в роботі та самостійність виконання. Наведені дані щодо використаних методів статистичного аналізу свідчать про вірогідність і відтворюваність результатів і можливість їх порівняння з літературними даними.

У **3-му розділі «Клінічні дослідження»** на основі власних досліджень показано, що НІРЕС більш ефективний, ніж системна хіміотерапія, проте в крові під час проведення НІРЕС визначається суттєве підвищення і коливання вмісту платини, системний вплив цисплатину та підвищеної температури на організм людей. На підставі оригінальних досліджень авторка робить висновок, що аналіз крові на вміст цинку та міді напередодні операції дозволяє прогнозувати чутливість пацієнта до терапії ЦП — знижений вміст міді сприяє підвищенню чутливості до хіміотерапії сполуками платини. Після НІРЕС у пацієнтів суттєво змінюється мікроелементний гомеостаз, а саме: знижується вміст цинку, міді та марганцю проте зростає виведення заліза з сечею. Отримані дані вказують на необхідність проведення нефро- та гепатопротекторних процедур до, під час та після проведення НІРЕС з препаратами платини.

У **4-му розділі в 4-х підрозділах «Моделювання НІРЕС на щурах»** Для перевірки і уточнення клінічних спостережень проведене експериментальне дослідження на лабораторних тваринах де нами показано, що застосування ЦП супроводжується дистрофічними змінами паренхіми печінки і нирок щурів. При цьому температура розчину ЦП визначає особливості реакції нирок і печінки: при застосуванні гарячого цисплатину більше страждає печінка, а холодного – нирки. Наявність платини в очеревині, нирках та печінці свідчать про те, що можливо прогнозувати відтерміновані ефекти загальнотоксичної дії ЦП, які будуть розвиватися з часом при перерозподілі накопиченої платини. Авторка показала, що відбувається швидке зростання загального вмісту металотіонеїнів (МТ) в печінці та нирках, на тлі введення ЦП що має захисну і адаптаційну дію організму до введення високотоксичних сполук платини. Концентрація МТ максимальна в нирках, але (з урахуванням маси органів), загальний вміст МТ вище в печінці, де саме і відбувається основний синтез МТ для протистояння проявам токсичної дії

сполук важких металів взагалі та зокрема ЦП.

У 5-му розділі «Моделювання дії цисплатину *in vitro*» на ізольованих органах, а саме печінці та нирках показано, що на поверхні органів відбувається значна сорбція ЦП, яка збільшується при підвищенні температури. Дисертант дає цьому факту достатньо зважене пояснення, яке доводить глибоке розуміння досліджуваної проблеми.

У розділі «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» автор стисло та досить повно проводить узагальнення отриманих у результаті дослідження даних, проводячи зіставлення власного фактичного матеріалу з даними досліджень інших авторів.

Зміст та стиль викладення даного розділу демонструє вміння автора аналізувати результати власних досліджень, що дозволяє сформулювати обґрунтовані висновки.

Висновки дисертації – логічно витікають з аналізу отриманих результатів, обґрунтовані і достовірні, відповідають поставленій меті й завданням дослідження, повністю відображають проведений обсяг дослідження та свідчать про завершеність роботи.

Перелік використаної літератури складений грамотно, згідно вимогам бібліографічного опису ДАК України.

8. Повнота викладення результатів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.

За темою роботи опубліковано 18 наукових праць, з них 11 статей, у тому числі 8 – у наукових фахових виданнях України (з них 1 одноосібна), 3 – у закордонному науковому журналі медичного профілю (Польща), який входить до міжнародних наукометричних баз даних (Google Scholar, CrossRef, Index Copernicus, Russian Science Citation Index), 7 тез доповідей в збірках матеріалів науково-практичних конференцій, у тому числі з міжнародною участю), що підтверджує їх ідентичність за змістом і науковою значущістю та інтерпретацією.

9. Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.

Автореферат повністю відображає наукові положення, що викладені в дисертації.

10. Матеріали для наукової дискусії. Питання для наукової дискусії.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення.

Є поодинокі друкарські та інші помилки, зокрема у українському тексті зустрічаються російські літери.

У переліку умовних скорочень представлені не всі скорочення, що використовуються автором в розділах дисертації.

Проте принципових зауважень щодо змісту та оформлення дисертаційної роботи та автореферату немає, що дозволяє оцінити їх позитивно.

Враховуючи великий і різноплановий матеріал дисертації, представляє суттєвий науковий інтерес ряд дискусійних запитань, відповіді на які бажано надати в ході офіційного захисту.

1. Значна частина роботи призначена визначенню металотіонеїнів. Що це за білки і чому саме на них Ви акцентуєте свою увагу?

2. Чи вважаєте Ви НІРЕС з цисплатином більш безпечним та ефективним, ніж звичайна внутрішньовенна хіміотерапія?

3. Як на Ваш погляд, що заважає широкому використанню НІРЕС в лікуванні онкологічних захворювань?

Слід підкреслити, що всі запитання поставлені в плані наукової дискусії, з урахуванням виконаної авторкою власноруч на високому науково-методичному рівні якісної і перспективної дисертаційної роботи.

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота **Пихтєєвої Олени Дмитрівни** «Патогенетичні механізми системної токсичності при використанні гіпертермічної інтраопераційної інтраперитонеальної хіміоперфузії з цисплатином при канцероматозі очеревини (клініко-експериментальне дослідження)» є завершеною самостійною кваліфікаційною науковою працею, у якій

сформульовані і обґрунтовані наукові положення, які можна кваліфікувати як нове вирішення актуального наукового завдання в патофізіології. Дисертаційне дослідження за актуальністю, обсягом проведених досліджень, аналізом результатів і новизною отриманих даних, обґрунтованістю і достовірністю висновків і положень відповідає вимогам п.11 Постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 "Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р. та № 1159 від 30.12.2015р.), щодо кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 - патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

доктор медичних наук, професор,
професор кафедри загальної та клінічної
патофізіології імені Д.О. Альперна
Харківського національного медичного
університету МОЗ України



ХАРКІВСЬКИЙ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Загальний відділ
Засідання
№ 8906866
БАНБАВЧЕНКО Г.М.

[Handwritten signature]

О.О. Павлова