

ВІДГУК

офіційного опонента про дисертаційну роботу Хоменка Дмитра Івановича «Оптимізація методу кріофіксації при хірургічному лікуванні пацієнтів з незапальними захворюваннями підшлункової залози», подану в спеціалізовану вчену раду Д.26.561.01 у ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова» НАМН України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.03 – хірургія

Актуальність обраної теми дисертації

До групи незапальних захворювань підшлункової залози відносять неопластичні доброякісні та злоякісні захворювання, дизонтогенетичні захворювання (істинні кісти підшлункової залози, кістозний фіброз) та фіброзні захворювання – деякі різновиди хронічного панкреатиту, фіброз та цироз підшлункової залози. Серед групи незапальних захворювань підшлункової залози найгірші результати лікування характерні для неопластичних злоякісних захворювань.

Актуальність обраної дисертантом теми є безсумнівною, так як, рак підшлункової залози займає четверту позицію в списку онкологічних захворювань, що призводять до смерті у всьому світі. Захворюваність на дану локалізацію раку у високорозвинених країнах постійно зростає і становить 9-10 випадків на 100000 населення. В Україні за даними Національного канцер-реєстру цей показник ще вищий і становить 11,9 випадків на 100000 населення.

На момент встановлення діагнозу рак підшлункової залози, на жаль, лише в 15 - 20 % хворих можливе виконання радикальної резекції, після якої рівень 5-річної виживаності рідко перевищує 5 % навіть в спеціалізованих панкреатологічних центрах.

Ряд вчених пов'язують незадовільні віддалені результати лікування даної категорії хворих з інтраопераційною дисемінацією пухлинних клітин у системний кровообіг, лімфатичну систему та прилеглі серозні порожнини під час мобілізації пухлини, внаслідок пальпаторно-тракційних маніпуляцій з пухлиною. Неможливість дотримання принципу «no – touch» хірургії резектабельного раку підшлункової залози обумовлена значними розмірами пухлини на момент виконання оперативного втручання, а частота виявлення хворих з резектабельною солідною злоякісною пухлиною підшлункової залози розміром менше 2 см в діаметрі в наш час – казуїстичні, поодинокі, рідкісні випадки.

Поліпшити віддалені результати лікування хворих на рак підшлункової залози у провідних колективах світу намагаються шляхом вдосконалення існуючих та розробки нових способів лікування, в тому числі із застосуванням локальних методів впливу на пухлину.

Гідне місце серед локальних методів впливу на пухлину посідає кріохірургія. Однак метод локальної кріодії застосовують, в основному, з паліативною метою при нерезектабельних локально-поширених формах солідних пухлин підшлункової залози з метою купування больового синдрому, зменшення пухлинної маси, підвищення чутливості пухлини до хіміотерапії. Мала кількість робіт присвячена вивченню локального кріовпливу у хворих з резектабельними формами раку підшлункової залози, хоча методу притаманні виражені абластичний та антибластичний ефекти. Однак, не дивлячись на позитивні ефекти притаманні кріофіксації резектабельної пухлини підшлункової залози, метод залишався остаточно не розробленим до недавнього часу, так як були відсутні дані, які зміни відбуваються в пухлинній тканині на різній відстані від кріоаплікатора під час кріофіксації та які температури вдається досягти на різній відстані від робочої поверхні кріоаплікатора після першого, другого циклу кріофіксації, чи впливає локалізація пухлини відносно відділів підшлункової залози на ефективність кріофіксації і т. д. Метод кріофіксації потребував глибокого вивчення, вдосконалення та оцінки ефективності, чому і присвячено роботу дисертанта.

Пошук нових та удосконалення відомих методів радикального лікування злоякісних пухлин підшлункової залози, які суттєво покращать віддалені результати цього лікування є особливо важливим сьогодні, що дає підстави вважати дисертаційну роботу Хоменка Д.І. актуальною.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри загальної хірургії №1 «Застосування кріохірургічних технологій в комплексному лікуванні пухлин гепатопанкреатодуоденальної зони» (№ державної реєстрації 0116U004901; 2016–2018 рр.).

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що здобувачем вперше:

– розроблено оригінальний спосіб контролю показників температури на дискретних глибинах від робочої поверхні кріоаплікатора з набору

універсальної кріохірургічної установки «Кріо-Пульс» в біологічній тканині у фіксованих точках під час процесу локальної кріодії в експерименті, та кріофіксації в клініці, шляхом застосування мідь-константанових термопар Т-типу довжиною 3, 8, 13 та 18 мм (патент на корисну модель України №116730, 2017 р.);

– обґрунтовано в експерименті, на моделях *in vitro* та *in vivo*, ефективність застосування попереднього введення в біологічну тканину дистильованої H_2O з метою потенціювання локальної кріодії: встановлено достатню мінімальну тривалість часу експозиції, від моменту введення в біологічну тканину дистильованої H_2O , до початку процесу локальної кріодії, що склала 5 хв;

– розроблено формулу розрахунку об'єму дистильованої H_2O , що потрібно ввести в солідну пухлину з метою кріопотенціювання ($V_{д.в.} = V_{п.х0,38}$);

– вперше методом цитоморфометричного аналізу встановлено, що через 5 хв після введення в пухлинну тканину дистильованої H_2O площа поперечного січення клітин збільшується не менше ніж в 3,4 рази за рахунок осмотичного набряку;

– встановлено значення масивного теплоприведення від магістральних судин в проекції задньої поверхні головки підшлункової залози, як чинника, що погіршує ефективність кріофіксації подвійним циклом резектабельних солідних злоякісних пухлин проксимального відділу залози та не дозволяє отримувати температури в діапазоні мінусових значень на відстані 18 мм і більше навіть після проведення двох циклів кріофіксації пухлини з експозицією періоду заморозки 10 хв кріоаплікатором діаметром 30 мм та температурою робочої поверхні $-180^{\circ}C$;

– розроблено та впроваджено в клінічну практику ефективну методику потенціювання процесу кріофіксації дистильованою H_2O резектабельних солідних злоякісних пухлин, при хірургічному лікуванні хворих з незапальними захворюваннями підшлункової залози (патент на корисну модель України № 119932, 2017 р.), що дозволило отримати середні температури в діапазоні мінусових значень в кінці 10-ї хв другого циклу заморозки, які в $(2,1 \pm 0,2)$ рази перевищують значення температур, де кріопотенціювання не застосовували – при локалізації пухлини в проксимальному відділі підшлункової залози, та в $(1,85 \pm 0,24)$ рази – при локалізації пухлини в дистальному відділі підшлункової залози;

- дано визначення терміну «кріофіксація».

Теоретичне значення результатів дослідження.

Результати дослідження є важливими для медичної науки, кріохірургії, оскільки отримані в ході проведення експериментально-клінічного дослідження нові наукові знання розкривають нові можливості для широкого застосування методу кріофіксації резектабельних злоякісних солідних пухлин не лише підшлункової залози, а й інших нозологічних одиниць, що може бути поштовхом до вивчення даного методу в інших галузях медицини. Отримані автором нові дані стосовно необхідності потенціювання процесу кріофіксації дистильованою H_2O у хворих з резектабельною солідною злоякісною пухлиною підшлункової залози можуть бути використані для розробки більш потужних вітчизняних кріохірургічних установок.

Практичне значення отриманих результатів

Практичне значення отриманих результатів в дисертаційній роботі не викликає жодних сумнівів. Розроблений автором метод кріопотенціювання дистильованою H_2O надає можливість оптимізувати метод кріофіксації солідної злоякісної пухлини підшлункової залози залежно від її локалізації, та досягати 100% гарантованої повної деструкції пухлинних клітин за рахунок первинного необоротного кріоушкодження в заданому об'ємі тканин.

Велике практичне значення має і розроблений оригінальний спосіб контролю показників температури на дискретних глибинах від робочої поверхні кріоаплікатора з набору універсальної кріохірургічної установки «Кріо-Пульс» в біологічній тканині у фіксованих точках під час процесу локальної кріодії в експерименті, та кріофіксації в клініці, шляхом застосування мідь-константанових термопар Т-типу довжиною 3, 8, 13 та 18 мм (патент на корисну модель України №116730, 2017 р.).

Ступінь обґрунтованості та вірогідності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Для досягнення мети автором проведено багатопланове експериментальне дослідження по вивченню динаміки змін температури на дискретних глибинах, розмірів (висота, діаметр) та об'єму льодяної кулі у гіпотонічному (дистильована вода), фізіологічному та насиченому гіпертонічному розчині під час локальної кріодії; вплив низьких температур на клітини карциноми Герена з дистильованою водою та його вплив на біологічну тканину з попереднім введенням дистильованої води за відсутності кровотоку (модель: печінка свині) та про його збереженні на моделі 40 білих безпородних щурів. Для оцінки впливу застосовані сучасні

морфологічні методи дослідження.

В основу клінічної частини дослідження покладено аналіз результатів лікування 97 хворих, що стало основою для багатопланового дослідження. Слід відмітити патогенетично обумовлений підхід до вибору методик дослідження-використані сучасні клінічні, імунобіологічні, морфологічні та інструментальні методи обстеження.

Положення, висновки і рекомендації вкінці кожного розділу власних досліджень дисертації логічно сформульовані та обґрунтовані з великим ступенем вірогідності та є продуктом глибокого статистичного аналізу із застосуванням сучасного програмного забезпечення MedStat та SPSS 22.0.

Оцінка змісту роботи та зауваження щодо оформлення

Дисертація викладена українською мовою на 232 сторінках і складається з анотацій, вступу, шести розділів, висновків, аналізу та узагальнення результатів дослідження, списку використаних джерел та додатків. Основний текст містить 26 таблиць та 66 рисунків. Список цитованої літератури включає 171 джерело (з них 108 латиницею).

Розділ 1. Аналіз сучасного стану проблеми хірургічного лікування пацієнтів з незапальними захворюваннями підшлункової залози (огляд літератури), викладений на 21 сторінці і складається з розгляду питань епідеміології, методів лікування хворих з резектабельними пухлинами підшлункової залози, методів абляції пухлин підшлункової залози, історії кріохірургії, кріофіксації пухлин підшлункової залози, вивчення механізмів ефекту кріодеструкції пухлин, а також відомих методів потенціювання локальної кріодії на біологічну тканину. Інформація першого розділу актуальна, сучасна, викладена структуровано і доступна для сприйняття.

Розділ 2. Матеріали та методи. В основу клінічної частини дослідження було покладено аналіз результатів діагностики, лікування та спостереження за 97 хворими. Дослідження було розподілено на 3 етапи: на 1-му етапі (ретроспективний аналіз) хворим виконували класичний варіант резекції залози, тип якої залежав від локалізації пухлини; на 2-му етапі – проводили кріофіксацію пухлини з наступним виконанням резекції підшлункової залози; на 3-му етапі проводили посилення процесу кріофіксації, шляхом попереднього введення в пухлину дистильованої води з наступним виконанням кріофіксації та резекції підшлункової залози. Усіх хворих, включених в дослідження, було розподілено на 3 групи – дві порівняння (46 та 21 особи) та основну (30 осіб).

В розділі автор детально наводить критерії включення, не включення та виключення хворих з дослідження, представляє дизайн дослідження та етапи його проведення. Розподіл хворих в групи визначався періодом

дослідження та був обумовлений характером проведеного оперативного втручання, що проводилось в кожного окремо взятого хворого. В даному розділі автор наводить детальну порівняльну характеристику хворих за такими показниками як вік, стать, локалізація пухлини, стадія захворювання за класифікацією TNM-7, що відображає у вигляді таблиць та стовпчикових діаграм. Матеріал легко читається та сприймається. Статистична обробка даних дозволила автору прийти до заключення, що групи (P), (K+P) та (D+K+P) є репрезентативними за вище наведеними ознаками, що дозволило проводити в подальшому між ними порівняльний аналіз результатів лікування.

Автор детально описує методи обстеження хворих, акцентує увагу на розробленому способі термометрії в біологічній тканині під час процесу локальної кріодії шляхом застосування мідь-константанових термопар T-типу фіксованої довжини (3, 8, 13, 18 мм). Наведено характеристику методів статистичної обробки та представлення даних.

Для виконання даної роботи було використано всі сучасні та необхідні методи дослідження, які підходять для вирішення поставлених задач, а кількість хворих та наявність двох груп порівняння дозволяють стверджувати, що методологія побудови дизайну дослідження правильна.

У розділі 3 «Потенціювання впливу низьких температур на пухлинну тканину (експериментальне дослідження)» наведено результати експериментальної частини, яка включала чотири етапи. Завданням першого етапу було визначення динаміки змін температури на дискретних глибинах, розмірів (висота, діаметр) та об'єму льодяної кулі у гіпотонічному (дистильована вода), фізіологічному та насиченому гіпертонічному розчині під час локальної кріодії. Встановлено, що найбільший об'єм льоду утворюється в дистильованій воді, яку можна використовувати для потенціювання локальної кріодії в біологічній тканині. За результатами другого етапу експериментального дослідження на моделі клітин карциноми Герена було встановлено: час експозиції тривалістю 5 хв є достатнім при контакті пухлинних клітин карциноми Герена з дистильованою водою для розвитку максимальної їх гідратації за рахунок осмосу, у більшій строки настає неминуча клітинна загибель. Метою третього та четвертого етапів експериментального дослідження було встановлення факту, що попереднє введення дистильованої води в біологічну тканину за відсутності кровотоку (модель печінки свині) та при його збереженні на моделі 40 білих безпородних щурів, посилює процес локальної кріодії.

Розділ ілюстрований значною кількістю оригінальних рисунків, мікрофотографій гістологічного матеріалу. Автор вдало вирішує питання

представлення значної кількості цифрових даних температур на дискретних глибинах в дослідних рідинах, тканині печінки свині, перевитій карциномі Герена у вигляді термограм, що легко сприймаються та аналізуються.

Експеримент добре продуманий, висновки кожного з етапів експерименту логічно випливають з отриманих результатів, від першого до четвертого етапу експерименту простежується єдність думки, що в кінцевому результаті дало можливість розробити новий метод потенціювання локальної кріодії шляхом попереднього введення в біологічну тканину дистильованої H_2O .

В розділі 4 «Діагностика та хірургічне лікування хворих з резектабельною солідною злоякісною пухлиною підшлункової залози в групі порівняння (P)» авторописує перший етап клінічної частини дослідження в групі порівняння (P), в яку було включено 46 хворих з резектабельним раком підшлункової залози та виконувались класичні варіанти резекцій без кріофіксації в залежності від локалізації пухлини в дистальному чи проксимальному відділі залози. Було встановлено, що середній об'єм пухлини за даними магнітно-резонансної панкреатохолангіографії достовірно не відрізнявся від середнього об'єму пухлини по даних МСКТ та фактичного об'єму видаленої пухлини і складав в середньому 22 см^3 . Це дало змогу зробити висновок, що метод МРТ не має переваг над методом КТ для визначення лінійних розмірів пухлини на передопераційному етапі для планування кріофіксації.

Автор проводить аналіз можливості застосування цитологічного та імуноцитохімічного методів в ідентифікації циркулюючих пухлинних клітин в крові, ізольованих пухлинних клітин в змивах з очеревини та циркулюючої пухлинної ДНК з *kras*-мутацією в плазмі крові хворих з резектабельною протоковою аденокарциномою підшлункової залози до, під час та після операції з метою визначення можливості їх застосування як додаткового маркера безпосереднього контролю ефективності проведення кріофіксації.

За результатами другого етапу (розділ 5 «Кріофіксація резектабельних солідних злоякісних пухлин підшлункової залози в групі порівняння (K+P)») встановлено статистично значущі більш низькі середні температури в тілі і хвості підшлункової залози при кріофіксації порівняно з хворими, у яких пухлина локалізується в головці підшлункової залози, що автор пояснює масивним теплоприведенням від магістральних судин у проекції головки залози. Аналіз температурних кривих на дискретних глибинах від робочої поверхні кріоаплікатора під час кріофіксації пухлини підшлункової залози подвійним циклом та якісна і кількісна оцінка відповідних цитоморфологічних змін пухлинних клітин на дослідних глибинах дали

зможу автору вперше довести відсутність ефективності застосування кріофіксації без поєднання з методами кріопотенціювання. Взагалі отримано унікальні дані за майже півстолітню історію існування кріохірургії підшлункової залози, так як автору вдалось встановити динаміку змін температури на фіксованих відстанях (3, 8, 13 та 18 мм) від робочої поверхні кріоаплікатора під час кріофіксації пухлини; він вперше показав, що навіть вкінці 10-ї хвилини періоду заморозки другого циклу кріофіксації в солідній резектабельній пухлині з локалізацією в головці підшлункової залози середні температури на глибині 18 мм і більше від робочої поверхні кріоаплікатора діаметром 30 мм не досягають температур в діапазоні мінусових значень, а життєздатні пухлинні клітини визначаються на всіх дослідних глибинах.

Ці дані стали поштовхом до розробки методу потенціювання локальної кріодії, про що детально йдеться в розділі 3 дисертації.

На 3-му етапі клінічної частини дослідження (розділ 6 «Потенціювання методу кріофіксації дистильованою H_2O при хірургічному лікуванні хворих з резектабельною солідною злоякісною пухлиною підшлункової залози в основній групі (Д+К+Р)») автор підтверджує дані експериментальних досліджень, що при застосуванні дистильованої води з метою кріопотенціювання з наступним виконанням класичного варіанта резекції підшлункової залози (патент України на корисну модель №119932 від 2017 р.) досягаються вдвічі менші температури в діапазоні мінусових значень, ніж у випадках, коли кріопотенціювання не було, при цьому у всіх полях зору препарату видаленої пухлини відмічаються тромбоз судин мікроциркуляторного русла та необоротна деструкція пухлинних клітин за рахунок первинного кріоушкодження, що свідчить про безпосередню ефективність проведеної кріофіксації пухлини. В розділі добре ілюстровані оригінальні етапи кріофіксації пухлини підшлункової залози з інтраопераційною термометрією термопарами Т-типу, динаміка змін температури в пухлині представлена у вигляді графіків-термограм, патоцитологічні зміни в пухлинній тканині представлені мікрофотографіями з паралельним наведенням мікрофотографій після програмної обробки та підрахунку відсотку нежиттєздатних пухлинних клітин.

У розділі 7 «Порівняльна оцінка клінічних результатів хірургічного лікування хворих з незапальними захворюваннями підшлункової залози із застосуванням методу кріофіксації» проаналізовано безпосередні та віддалені результати лікування хворих на резектабельний рак підшлункової залози. Встановлено, що достовірної різниці між групами за тривалістю оперативного втручання; об'ємом інтраопераційної крововтрати; тривалістю перебування хворого в реанімації після операції; частотою та характером

післяопераційних ускладнень; частотою релапаротомій, ліжко-днем; післяопераційною летальністю виявлено не було, окрім термінів появи активної перистальтики, яка з'являлась на 1-у добу пізніше в групах хворих, де було застосовано метод кріофіксації.

Імовірність кумулятивної виживаності між групою порівняння (Р), (К+Р) та основною групою (Д+К+Р) проведено автором із застосуванням пакету SPSS 22.0 з побудовою кривих виживаності Kaplan –Meier.

Автору вдалось досягти поставленої мети – поліпшити показник виживаності хворих на незапальні захворювання підшлункової залози в основній групі (Д+К+Р) в термін спостереження 18 міс.; так кумулятивна виживаність в групах порівняння (Р) та (К+Р) склала відповідно 42,2 %, 49,5 %, а в основній групі (Д+К+Р) – 74,7 %, що на 32,5 % більше ($P < 0,05$).

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» повністю резюмує результати проведеного дослідження. В розділі сконцентровані основні, найбільш важливі положення дисертації,

Висновки є логічним завершенням даної роботи, відповідають поставленим задачам дослідження, базуються на аналізі отриманих результатів. Принципових зауважень до роботи не маю-автором проведена велика багатопланова робота.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях

За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць, з яких 3 статті у наукових фахових виданнях України, 2 статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, 4 статті у наукових виданнях інших держав, 6 тез наукових доповідей, 2 патенти на корисну модель України.

Автореферат дисертації за структурою та змістом цілком відповідає текстові дисертації.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Дисертантом удосконалено метод кріофіксації резектабельних злоякісних солідних пухлин підшлункової залози, шляхом розробки ефективного способу кріопотенціювання дистильованою H_2O ; запропоновано оригінальний спосіб контролю показників температури в пухлині на дискретних глибинах під час кріофіксації шляхом застосування мідь-константанових термопар Т-типу довжиною 3, 8, 13 та 18 мм. Пріоритетність методик закріплена двома патентами України на корисну модель. Отже, запропоновані автором методики потрібно рекомендувати до

широкого використання в практиці охорони здоров'я та впроваджувати в практичну діяльність державних закладів охорони здоров'я України.

Спеціальність, якій відповідає дисертація. Дисертаційне дослідження Хоменка Дмитра Івановича «Оптимізація методу кріофіксації при хірургічному лікуванні пацієнтів з незапальними захворюваннями підшлункової залози» відповідає спеціальності 14.01.03 «Хірургія».

Відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до наукового ступеня кандидата медичних наук.

Дисертаційна робота Хоменка Дмитра Івановича на тему: «Оптимізація методу кріофіксації при хірургічному лікуванні пацієнтів з незапальними захворюваннями підшлункової залози» виконана під керівництвом доктора медичних наук, професора Дронова Олексія Івановича є завершеною науковою працею, в якій отримані нові науково обгрунтовані результати, що в сукупності вирішують конкретну наукову задачу - покращення віддалених результатів хірургічного лікування хворих з незапальними захворюваннями підшлункової залози шляхом удосконалення методу кріофіксації, розробці ефективного способу кріопотенціювання і є суттєвими для хірургічної науки та практики.

Дисертаційна робота Хоменка Дмитра Івановича за актуальністю проблеми що вивчається, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням повністю відповідає вимогам пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанова Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р. та № 1159 від 30.12.2015 р.), а її автор заслуговує присудження йому наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.03 «Хірургія».

Офіційний опонент,
завідувач кафедри загальної хірургії №2
Харківського національного
медичного університету МОЗ України
доктор медичних наук, професор


В. О. Сипливий