

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Семёнова Эдуарда Васильевича «Оптимизация подходов к диагностике и оценке риска развития рецидива у больных мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря», представленную на соискание ученой кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология

Актуальность темы

Пик заболеваемости раком мочевого пузыря регистрируется в возрастной категории 50-80 лет (средний возраст - 67 лет). Показатели общемировой статистики весьма неутешительны: ежегодно регистрируется более 430 тысяч новых случаев РМП, что составляет 3,1% всех злокачественных новообразований и 30-40% опухолей мочеполовой системы. Ежегодно в России РМП заболевают более 16 тысяч человек. За последнее десятилетие в стране отмечается рост заболеваемости на 20,3%. Риск развития злокачественных опухолей мочевого пузыря увеличивается с возрастом и имеет половые особенности: мужчины заболевают в 2,5-10 раз чаще, чем женщины.

«Классической триадой» в первичной диагностике РМП считают ультразвуковое исследование (УЗИ) мочевого пузыря, цистоскопию (ЦС) с биопсией и цитологическое исследование мочи (ЦИМ).

Диссертационное исследование Семёнова Эдуарда Васильевича затрагивает одну из важных проблем современной онкоурологии - поиск новых информативных критериев диагностики мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (МНРМП), а также идентификация предикторов рецидива заболевания после проведенного комбинированного лечения. На сегодняшний день в мире ежегодно регистрируется более 430 тыс. новых случаев рака мочевого пузыря, что составляет около 3% всех злокачественных новообразований, из них мышечно-неинвазивные формы составляют 70-80%, а частота их рецидивирования в первый год после проведенного лечения достигает 40-50%.

Общепризнанным стандартом лабораторной диагностики МНРМП считается цитологическое исследование мочи, однако его диагностическая значимость невелика: специфичность составляет 40-44%, чувствительность - 30-35%. Помимо

цитологического исследования, существует большое количество тест-систем для диагностики МНРМП, но не одна из них не вошла в рутинную клиническую практику в связи с их недостаточно высокой диагностической точностью.

Отсутствие специфичных маркеров, ассоциированных с МНРМП, определяет актуальность разработки интегративных методов диагностики заболевания и оценки злокачественного потенциала опухоли на начальных этапах ее развития. Успехи последнего времени в понимании биологии опухолевого роста позволяют использовать в качестве такого метода оценку уровня экспрессии поверхностных маркеров, а также показатели митотического цикла клеток осадка мочи.

Поэтому, оптимальный метод лабораторного исследования должен иметь высокую диагностическую точность, воспроизводимость, прогностическую ценность, быть в свою очередь недорогим, простым в исполнении, подходить для раннего выявления первичной опухоли и диагностики ее рецидива. В связи с этим, определение фенотипических характеристик клеточного осадка мочи, имеющих высокую информативность в диагностике первичной опухоли мочевого пузыря и ее рецидива после комбинированного лечения, является, безусловно, актуальным.

Научная новизна

Основной проблемой в лечении МНРМП является его склонность к рецидивирующему течению, несмотря на использование комбинированного лечения. Диагностике рецидива заболевания посвящено большое количество работ, направленных на поиск клинико-морфологических, цитологических и молекулярных предикторов течения заболевания. Тем не менее, до сих пор четко не определены критерии риска развития рецидива МНРМП, а также перечень и кратность проведения обследований.

Автором впервые изучены особенности экспрессии поверхностных антигенов CD13, CD15, CD45 на клетках осадка мочи у больных МНРМП в сравнении со здоровыми донорами, а также в зависимости от развития рецидива заболевания. В ходе исследования установлено, что у пациентов с МНРМП, по сравнению с лицами без опухолевой патологии, повышена экспрессия CD13, CD15,

CD45 антигенов клетками осадка мочи, уменьшена доля клеток, находящихся в синтетической фазе клеточного цикла, а также увеличена доля клеток в пресинтетической, постсинтетической фазе митоза.

Впервые установлены особенности показателей клеточного цикла у пациентов с МНРМП в зависимости от характера течения заболевания. Так, при рецидивирующем течении отмечено увеличение доли клеток в синтетической фазе митотического цикла.

На основании математического анализа основных клинико-морфологических показателей и фенотипических параметров клеток осадка мочи выявлены наиболее информативные показатели в диагностике первичной опухоли, а также разработаны высокоинформативные модели оценки риска развития рецидива МНРМП с высокой диагностической точностью.

Значимость проведенных исследований для науки и практики

Установленные автором особенности экспрессии поверхностных антигенов CD13, CD15, CD45, а также показателей клеточного цикла дают возможность использовать данные параметры в качестве дополнительных информативных критериев диагностики МНРМП.

Автором выявлены предикторы снижения периода безрецидивной выживаемости больных МНРМП после комбинированного лечения.

Разработанные с учетом клинико-морфологических параметров и показателей клеточного цикла дискриминантные и регрессионные модели позволяют оценить вероятность развития рецидива после проведенного комбинированного лечения, что дает возможность оптимизировать тактику дальнейшего динамического наблюдения за пациентами с МНРМП.

Обоснованность и достоверность полученных результатов и сформулированных выводов

Диссертационная работа Семёнова Э.В. основана на большом клиническом материале – 162 больных МНРМП, пролеченных в Красноярском краевом онкологическом диспансере в 2012-2014 гг. Используемые в работе методы

современны и адекватны поставленной цели и задачам. Достоверность результатов исследования подтверждается данными статистического анализа, основанного на использовании параметрических и непараметрических критериев в пакете компьютерных программ «Microsoft Office Excel 2013», «IBM SPSS 20.0». Оценка показателей 3-летней общей опухолеспецифической и безрецидивной выживаемости проведена с помощью метода Каплана-Мейера. Для математического моделирования использованы регрессия Кокса, дискриминантный и логистический регрессионный анализ. Таким образом, достоверность результатов проведенного исследования не вызывает сомнений.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научных конференциях различного уровня. Автором по теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 4 статьи в журналах перечня ВАК.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационной работы Семёнова Э.В. могут быть использованы в практике онкологических учреждений и включены в рабочие программы по онкологии и урологии для студентов медицинских вузов, а также врачей, обучающихся в системе дополнительного профессионального образования.

Структура диссертации

Диссертация выполнена в традиционном стиле, изложена на 138 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», главы собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 45 таблицами и 15 рисунками. Список литературы включает 177 источника, из них 97 отечественных и 80 иностранных.

Во введении автором обосновывается актуальность темы исследования, формулируются цель и задачи, отмечается научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, география апробации.

В главе «Обзор литературы» приведены данные об эпидемиологии. Отмечено, что рак мочевого пузыря в 2,5-10 раз чаще встречается у мужчин, чем у женщин той же возрастной категории, что, по-видимому, может быть связано с генетическими, гормональными и анатомическими особенностями человека. Для рака мочевого пузыря характерно нарастание заболеваемости с возрастом – установлено, что у лиц старше 65. Частота РМП в Российской Федерации составляет около 2,7-5% всех опухолей и 45% среди опухолей мочеполовой системы. У 80% больных заболевание диагностируется на ранних стадиях заболевания. Отражены территориальные особенности уровня заболеваемости мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря. Отмечены определенные риски развития рака мочевого пузыря в зависимости от профессиональных вредностей, от образа жизни, лучевая терапия органов малого таза и другие. Вероятность развития рецидива мышечно-неинвазивных опухолей мочевого пузыря отличаются в зависимости от риска злокачественности и достигает 61% в первый год после проведенного оперативного лечения.

Остается актуальной проблема раннего выявления рака мочевого пузыря. «Классической триадой» в первичной диагностике заболевания считают ультразвуковое исследование, цистоскопию с биопсией и цитологическое исследование мочи. Общепризнанным стандартом лабораторной диагностики рака мочевого пузыря считается цитологическое исследование мочи. Следует отметить, что данная методика обладает низкой диагностической значимостью: со специфичностью 40-44%, чувствительностью – 30-35%. Основным методом лечения поверхностного рака мочевого пузыря – трансуретральная резекция. Полноценно освещена проблема рецидивирующего рака мочевого пузыря. Отмечено, что основными факторами высокой частоты рецидива и прогрессирования рака мочевого пузыря являются: наличие тяжелых дисплазий и *carcinoma in situ*, пропущенные опухоли при трансуретральной резекции. По данным статистики, после первичного вмешательства при обследовании пациентов через 2-6 недель, в 38%-63% случаев обнаруживаются остаточные опухоли (при повторных резекциях). В случае обнаружения при первичной резекции только солидной папиллярной опухоли - в 25% случаев выявляются другие злокачественные

образования при повторных резекциях. При папиллярной форме переходноклеточного рака частота рецидивов составляет до 60-85%, а прогрессирование - до 20%, при раке *in situ* – до 30%. Как правило, после проведенных операций (обычно в течение двух лет) у 50% пациентов, больных раком, развивается рецидив заболевания. Подробно описан молекулярный патогенез заболевания и факторы риска развития его рецидива. В заключение главы дана характеристика существующих методов прогнозирования течения рака мочевого пузыря.

В главе «Материалы и методы» соискателем дана характеристика объекта и методов исследования. В соответствии с целью и задачами работы объектом исследования явились:

1 группа исследования – пациенты с МНРМП, получавшие комбинированное лечение в КККОД (n=162);

2 группа контроля – практически здоровые доноры (n=69), у которых отсутствие опухоли мочевого пузыря подтверждено лабораторно-инструментальными методами диагностики.

При половозрастном распределении выявлено, что средний возраст наблюдаемых пациентов составил $63,7 \pm 10,30$ лет, среди них мужчин – 105 (64,80%), женщин – 57 (35,20%). Средний показатель в группе контроля - $58,7 \pm 8,21$ лет.

Отмечено, что бессимптомное течение заболевания отмечалось у 51 (31,5%) пациента. Клинические проявления у 111 (68,5%) больных МНРМП распределились следующим образом: гематурию отмечал 91 (56,2%) пациент – 62 (38,3%) мужчины и 29 (17,9%) женщин, жалобы на дизурические расстройства определялись у 71 (48,3%) больного, 39 (24,1%) мужчин и 32 (19,7%) женщины соответственно; болезненность при акте мочеиспускания – у 46 (28,4) пациентов: 31 (19,1%) мужчина и 15 (9,3%) женщин; жалобы на слабость, недомогание и общее нарушение самочувствия отмечалась у 13 (8,0%) человек – 10 (6,2%) мужчин и 3 (1,8%) женщины. При проведении цитологического исследования мочи атипичных клеток у всех пациентов, включенных в исследование, обнаружено не было. Все 162 пациента были прооперированы в объеме трансуретральной резекции мочевого пузыря. У большинства пациентов размер образования был от 1,0 до 4,0 см.

В зависимости от гистологического варианта опухоли у 157 (95,70%) наблюдаемых пациентов определялся переходно-клеточный вариант опухоли, у 6 (3,70%) пациентов отмечалась плоскоклеточная метаплазия, в 1 (0,60%) случае метаплазия по железистому типу. У 5 (3,10%) пациентов по линии среза обнаружены опухолевые клетки, что потребовало расширения области резекции. После окончания комбинированного лечения за всеми пациентами осуществлялось динамическое наблюдение в течение 36 месяцев с использованием стандартных методов обследования.

Кроме того, подробно описана методология проведения проточной цитометрии для определения показателей клеточного цикла и экспрессии поверхностных антигенов на клетках осадка мочи. Набор использованных автором методических приемов исследования является адекватным для решения поставленных задач. Статистическая обработка результатов диссертационного исследования проведена на высоком методическом уровне с использованием современных компьютерных программ.

Третья глава «Результаты собственных исследований и их обсуждение» посвящена анализу результатов комбинированного лечения. При оценке сроков возникновения рецидива у пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря установлено, что в 81,60% случаев он развивается в первый год после проведенного комбинированного лечения.

Результаты проведенного анализа свидетельствуют, что большинство рутинных общеклинических исследований у больных МНРМП не обладают достаточной специфичностью и чувствительностью в отношении прогноза развития рецидива заболевания (ОАК, ОАМ, Б\Х анализ крови, СКФ).

Отмечено анализ клинико-морфологических параметров у больных МНРМП исследуемых групп показал наличие ряда показателей, ассоциированных с рецидивирующим течением заболевания: небольшой размер опухоли, мультицентричность опухолевого роста, наличие TIS, локализация опухолевого поражения на боковых стенках, низкая степень дифференцировки опухоли.

Изучена особенность экспрессии поверхностных антигенов CD13, CD15, CD45 на клетках осадка мочи и показателей клеточного цикла у пациентов с

МНРМП в сравнении с группой контроля, а также в зависимости от характера течения заболевания. Отсутствие достоверных различий в уровне экспрессии поверхностных маркеров клеток осадка мочи в двух группах больных МНРМП отражает степень воздействия растущей опухоли на окружающие ткани органа.

Необходимо отметить, что в группе пациентов с рецидивирующим течением МНРМП по сравнению с группой больных без рецидива заболевания не установлено достоверных корреляционных связей между экспрессией поверхностных антигенов (CD13, CD15, CD45) и фазами клеточного цикла.

Установлены изменения изучаемых параметров, которые могут быть использованы в качестве информативных критериев при диагностике первичной опухоли мочевого пузыря, а также ассоциированные с высоким риском рецидива заболевания. Получена статистически значимая математическая модель, позволяющая при помощи дискриминантных функции провести классификацию единиц наблюдения по наличию или отсутствию опухоли мочевого пузыря с высокой чувствительностью – 79,6% и специфичностью - 79,7%. Общая точность модели составила 79,7%. По результатам проведенного математического моделирования наибольшую информативность в отношении наличия опухоли мочевого пузыря продемонстрировали параметры экспрессии CD15 и CD45 на клетках осадка мочи, а также доля клеток в синтетической и митотической фазах клеточного цикла.

На основании полученных данных разработаны математические модели для оценки риска развития рецидива заболевания после проведенного комбинированного лечения. Установлено, что наиболее точной прогностической моделью оценки риска развития рецидива МНРМП после комбинированного лечения по достигнутому уровню чувствительности и специфичности, является регрессионная логистическая модель, использующая в качестве предикторов сочетание показателей митотического цикла и клинических признаков. Модель обладает высокой специфичностью - 91,2%, чувствительность составила 69,4%, общая прогностическая точность - 84,5%. Установлены клинико-морфологические параметры и характеристики митотического цикла, ассоциированные с рецидивом заболевания у больных МНРМП после комбинированного лечения: наличие более

одной опухоли, наличии гематурии, доли клеток в синтетической фазе клеточного цикла в осадке мочи свыше 66,8%, а также доля клеток в фазе покоя менее 11%.

В заключении диссертационной работы автор резюмировал итоги проведенного исследования, сопоставил их с литературными данными. Цель работы представлена как оценка значимости клинико-морфологических показателей и фенотипического спектра клеток осадка мочи для диагностики опухоли и ее рецидива после комбинированного лечения у больных мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря. Общая опухолеспецифическая 3-летняя выживаемость у больных МНРМП составила 100%, безрецидивная выживаемость - 69,8%. При оценке сроков возникновения рецидива у пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря установлено, что практически в 82% случаев он развивается в первый год после комбинированного лечения. Изучение сопряженности клинической симптоматики с рецидивом заболевания показало, что у пациентов 1 группы (без рецидива) гематурия встречалась в 2,2 раза чаще ($p < 0,05$), чем у больных с рецидивирующим течением МНРМП (2 группа). Другие клинические проявления заболевания не имели статистически значимых различий в сравниваемых группах.

При анализе размеров опухоли у пациентов с МНРМП, выявлено, что размер опухоли 0,5-1 см в 2,2 ($p < 0,05$) раза чаще регистрировался у пациентов с рецидивирующим течением в сравнении с группой больных без рецидива заболевания. Кроме того, опухоль боковой стенки мочевого пузыря в 2,4 ($p < 0,05$) раза чаще диагностировалась у пациентов 1 группы в сравнении со 2 группой больных. Множественные опухоли в 3,1 ($p < 0,01$) раза чаще регистрировались у пациентов с рецидивирующим течением.

При анализе стадии заболевания у пациентов с МНРМП было установлено увеличение в 5,3 ($p < 0,05$) раза числа пациентов CIS по сравнению с пациентами без рецидива заболевания. Изучение степени дифференцировки опухоли мочевого пузыря у пациентов с МНРМП показало статистически значимые различия только при 3-й степени клеточной анаплазии (G3).

Диссертация завершается 5 выводами, соответствующими цели и задачам исследования и отражающими наиболее существенные результаты проведенного исследования.

Автореферат и публикации автора полностью отражают основное содержание диссертационной работы.

Замечания к работе:

Создана достаточно четкая математическая модель по результатам клинико-морфологических параметров, ассоциированных с высоким риском развития рецидива МНРМП в зависимости от наличия гематурии, размера опухоли, мультифокальности роста, степени дифференцировки - хотелось бы видеть эти результаты в виде прогностических шкал и калькуляторов.

Важно представить результаты исследование в группах пациентов стратифицированных по группам риска: опухоли низкого, среднего и высокого риска (в работе группы две: без рецидива и с рецидивом опухоли после ТУР).

Перечисленные замечания не уменьшают достоинств работы и ее научного значения.

Заключение

Диссертационная работа Семёнова Эдуарда Васильевича «Оптимизация подходов к диагностике и оценке риска развития рецидива у больных мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря», представленная на соискание ученой кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология является законченной научно-квалификационной работой. В ней решена актуальная научно-практическая задача по поиску новых дополнительных информативных критериев диагностики мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря и его рецидивов, имеющая существенное значение для онкологии.

По своей актуальности, методическому уровню, научной новизне, теоретической и практической значимости результатов исследования, обоснованности выводов диссертация Семёнова Э.В. полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного

постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013г. (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а диссертант достоин искомой степени по специальности 14.01.12 – онкология.

Профессор кафедры хирургии
с курсом мобилизационной подготовки
и медицины катастроф
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук

Виктор Равильевич Латыпов

Данные об авторе отзыва: Латыпов Виктор Равильевич - доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии ФПК и ППС федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, адрес 634031 г. Томск, Московский тракт, 2, телефон, +79061992459, адрес электронной почты alina@mail.tomsknet.ru

