

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

**доктора медицинских наук Проценко Светланы Анатольевны
на диссертационную работу Яровой Веры Андреевны на тему: «Прогностическая тонкоигольная аспирационная биопсия увеальной меланомы», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.07. – глазные болезни и 14.01.12 – онкология.**

Актуальность избранной темы

Диссертационная работа Яровой В.А. посвящена разработке технологии прогностической тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) увеальной меланомы (УМ), наиболее частой злокачественной опухоли сетчатки глаза, характеризующейся, как правило, агрессивным течением, способностью к метастазированию примерно у 50% пациентов вне зависимости от метода лечения первичного очага. При этом результаты лечения метастатической формы УМ, включая современные таргетные и иммуноонкологические препараты, являются неудовлетворительными и становятся основанием для поиска предиктивных и прогностических биомаркеров. Определение и изучение прогностических факторов течения заболевания, включая неблагоприятные исходы, направлено на возможность раннего выявления диссеминации опухоли, а также развития адьювантной терапии. Поскольку риск метастазирования УМ индивидуален и зависит от особенностей организма и опухоли, большие надежды возлагаются на изучение морфологических и молекулярно-генетических факторов, несмотря на разрозненный и противоречивый спектр генетических изменений для УМ, описанных в литературе.

Органосохраняющая направленность в лечении пациентов с УМ, обусловленная отсутствием разницы в выживаемости пациентов при сохранении глаза и при его удалении, а также необходимость получения материала опухоли для проведения прогностических тестов, требует разработки технологии малоинвазивной высокоинформативной и безопасной манипуляции ТИАБ. Разработка ТИАБ у пациентов с увеальной меланомой в сочетании с изучением прогностических морфологических и генетических факторов является важным и актуальным научным направлением как в офтальмологии, так и в онкологии.

Все вышеизложенное определяет актуальность диссертационной работы Яровой В.А.

Актуальность и значимость проведенных исследований подтверждается также достаточным количеством работ, опубликованных по теме диссертационного исследования.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа построена логично. Методологически верно определены цель и задачи исследования. Работа выполнена на большом клиническом материале (230 глаз) с применением современных методов офтальмологического и онкологического обследований пациентов, а также с использованием новейших методов морфологического и генетического изучения опухолевого материала. Глубокий анализ данных с использованием методов математической статистики подтверждают достоверность исследования, обоснованность и аргументированность выносимых на защиту положений, выводов и практических рекомендаций. Полученные результаты имеют несомненное научное и практическое значение.

Автореферат, а также опубликованные 27 научные работы, включая 12 в журналах, рецензируемых ВАК Министерства образования и науки РФ, 9 работ в зарубежной печати и 6 патентов на изобретение РФ, полностью отражают содержание диссертационной работы.

Материалы диссертации неоднократно представлялись на ведущих отечественных и зарубежных конференциях офтальмологической и онкологической направленности и неоднократно удостоивались призовых мест.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна исследования не вызывает сомнений.

1. Разработана целостная технология ТИАБ с определением оптимального инструментария манипуляции, методических подходов и мер профилактики интра- и послеоперационных осложнений
2. Впервые предложено использование супернатанта при обработке материала ТИАБ внутриглазных образований.
3. Предложено оценивать присутствие эпителиоидных клеток в материале ТИАБ как неблагоприятного фактора в развитии метастазов УМ.
4. Впервые проведен сравнительный анализ встречаемости различных предиктивно значимых маркеров в клинически однородных группах пациентов с метастазами и без метастазов, а также оценка их корреляции с показателями выживаемости.
5. Доказано, что мутации GNA11 и GNAQ являются взаимоисключающими, а их анализ может использоваться как дополнительный молекулярно-генетический метод дифференциальной диагностики УМ.

6. Среди морфологических и генетических факторов определены маркеры, обладающие наибольшей прогностической значимостью (эпителиоидный тип опухоли, изменения 8p, 8q, мутации гена EIF1AX), а также группа маркеров с меньшим прогностическим потенциалом (1p, 3p, 6q, мутация гена GNAQ).

7. Впервые проведено сравнение мутационной и цитогенетической классификаций риска развития МТС УМ, выявлено их полное несовпадение.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Научная и практическая значимость работы заключается в том, что предложены тонкостенные иглы 25-27G с различными углами заточки в зависимости от высоты внутриглазного образования, а также специальные иглы, позволившие увеличить площадь аспирирующей поверхности и получить более информативный материал при биопсии. Определена целесообразность использования игл 25G при биопсии очагов малого размера, показана его применимость для очагов передней локализации. Предложена методика профилактики экстрабульбарного распространения опухоли при ТИАБ, заключающаяся в установке порта-проводника, в эксперименте доказана эффективность данной разработки.

Разработан способ борьбы с интраоперационным кровотечением, возникающим при ТИАБ внутриглазных образований, заключающийся в установке дополнительного витреоретинального порта для подачи через него жидкости, для создания умеренной офтальмогипертензии, способствующей компрессии поврежденных сосудов. Разработан способ обработки материала ТИАБ методом жидкостной биопсии, позволяющий использовать клеточный осадок для выделения ДНК и проведения молекулярных тестов *in vitro*. В эксперименте доказана высокая информативность и чувствительность предложенной технологии ТИАБ, что было подтверждено при апробации технологии в клинике.

Впервые разработана прогностическая панель, включающая анализ клеточного типа опухоли, гена EIF1AX, регионов 1p, 3p, 6q, 8p и 8q, которая может использоваться для определения риска развития метастазов у пациентов с УМ. Доказано, что иммуногистохимический анализ уровня экспрессии белка VAP1 обладает низкой чувствительностью, что указывает на целесообразность использования метода MLPA для определения статуса копийности гена VAP1 в УМ как маркерного региона хромосомы.

Практическая значимость диссертации также определена внедрением в клиническую, педагогическую деятельность головной организации, филиалов ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава РФ, кафедры Глазных болезней Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова, ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России. Материалы диссертации могут быть рекомендованы для дальнейшего

внедрения в практику работы офтальмологических и онкологических учреждений, а также использованы в педагогическом процессе при подготовке и совершенствовании офтальмологов и онкологов, занимающихся проблемами внутриглазных образований и УМ в частности.

Оформление диссертации и оценка ее содержания

Диссертация построена в традиционном стиле, изложена на 178-ти страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной характеристике материала и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и использованной литературы. Работа иллюстрирована 56 рисунками и 31 таблицей. Список использованной литературы содержит 232 источника, из них 26 – отечественных и 206 – зарубежных.

Во **введении** автор лаконично обосновывает актуальность выбранной темы, формулирует цель, задачи, научную новизну и практическую значимость работы. Здесь же диссертант сообщает об апробации основных положений диссертации, ее структуре и объеме, публикациях, а также положениях, выносимых на защиту.

Обзор литературы написан в аналитическом стиле, содержит анализ отечественных и зарубежных публикаций, посвященных клиническим, морфологическим, генетическим особенностям увеальной меланомы, различным аспектам ТИАБ. Анализ литературных данных позволил автору определить наиболее актуальные проблемы ТИАБ, недостатки существующего метода. Автор логически подводит к необходимости разработки всех составляющих целостной технологии ТИАБ, включающей инструментальное обеспечение, методические приемы, профилактику осложнений, обработку материала, и определение прогностической панели наиболее значимых маркеров, предсказывающих метастатический потенциал УМ.

Вторая глава диссертации посвящена характеристике материалов и методов проводимых исследований, представлена общая структура работы. Исследование проведено на большом количестве клинического материала (230 глаз 230 пациентов) и включает три основных блока. В экспериментальную часть работы вошел 71 энуклеированный глаз с УМ, на которых выполняли разработку технологии ТИАБ. Апробацию предложенной технологии ТИАБ выполняли у 48 пациентов (48 глаз) с диагностической целью при необходимости морфологической верификации опухолевого очага. В ретроспективную группу исследования для определения наиболее значимых морфологических и генетических прогностических факторов было включено 111 глаз 111 пациентов, которым была проведена энуклеация по поводу УМ. В данной главе также подробно изложено морфологическое и генетическое исследование опухолевого материала.

В третьей главе автором проводится разработка важнейших компонентов ТИАБ внутриглазных образований. Представлена разработка и подробное описание всех этапов хирургической техники ТИАБ, включающей транссклеральный и трансквитреальный доступы; инструментария манипуляции - особого внимания заслуживают специализированные иглы для ТИАБ внутриглазных образований. Автор предлагает использовать витреоретинальный порт в качестве меры профилактики экстрабульбарного распространения опухоли – эффективность методики доказана в эксперименте. В данной главе также подробно описана техника обработки материала ТИАБ с последующей оценкой диагностической ценности манипуляции. Приведены цифры морфологической и генетической информативности ТИАБ в эксперименте, составляющие 100%.

В четвертой главе описано использование разработанной и предложенной для внутриглазных образований технология ТИАБ в клинике с диагностической целью у 48 пациентов. Подробно изложено предоперационное ведение пациентов и анестезиологическое пособие, а также детально описаны особенности ТИАБ при различных образованиях, что уже на этапе забора ткани позволяет судить о природе очага. Предложенная технология ТИАБ позволила верифицировать УМ и метастатическое поражение хориоидеи, лимфому, а также в комплексе с клинической картиной исключить УМ. Информативность манипуляции с диагностической целью составила 98%. Послеоперационное ведение пациентов, описанное в данной главе, включало как медикаментозное лечение, так и обследование пациентов в отдаленные сроки.

В пятой главе автором проведена разработка прогностической панели маркеров, наиболее значимых для оценки метастатического потенциала УМ, оценка которых возможна в рамках ТИАБ. Для данного блока работы проведен ретроспективный анализ 111 глаз с УМ 111 пациентов: у 60 пациентов были выявлены отдаленные метастазы, у 51 пациента – метастатического поражения выявлено не было. Выполнен морфологический и генетический анализ опухолевого материала, включающий анализ клеточного типа опухоли, а также исследование мутационных и цитогенетических изменений. Автор оценил встречаемость каждого из генетических изменений в статистически однородных по клиническим признакам (пол, возраст, размер опухоли, локализация, экстрабульбарный рост) группах пациентов с метастазами и без метастазов, а также оценил выживаемость пациентов в зависимости от выявляемых изменений. По результатам проведенного исследования был выделен спектр генетических изменений, обладающих достоверной связью с высоким риском развития метастазов УМ: эпителиоидный тип опухоли, среди мутационных нарушений – мутации генов EIF1AX, GNA11, а также делеция гена VAP1; среди цитогенетических – изменения регионов 1p, 3p, 6q, 8p, 8q. Проведенный автором многофакторный анализ позволил выделить нарушения, обладающие наибольшей прогностической силой (эпителиоидный компонент УМ, мутация гена EIF1AX, а также

изменение регионов 8p и 8q), и изменения с меньшим прогностическим потенциалом - 1p, 3p, 6q, мутация гена GNAQ. Кроме того, автором проведен анализ встречаемости мутационных и цитогенетических прогностических классов в группах пациентов с метастазами и без метастазов с последующим сравнением двух панелей стратификации риска диссеминации УМ. Сравнение показало совпадение прогностических классов лишь в 19 случаях (20%, kappa = -0,007). Полная разобщенность двух классификаций ставит перед исследователями УМ новые задачи, заключающиеся в разработке новой прогностической классификации.

В заключении отображены наиболее важные моменты исследования. Автор приводит анализ полученных результатов, а также их сопоставление с данными литературы.

Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам, полностью обоснованы фактическим материалом исследований и логически вытекают из содержания диссертации.

Практические рекомендации четко изложены, согласуются с выводами и материалами диссертационного исследования. Они могут быть использованы как в практике офтальмолога, так и в практике онколога.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по содержанию и изложению работы нет. Работа выполнена на высоком методическом уровне, написана грамотным языком.

Есть замечание по поводу использования терминов прогностические и предиктивные маркеры. Прогностические маркеры позволяют предсказывать прогноз заболевания, выживаемость, предиктивные биомаркеры - чувствительность к лечению, эффективность противоопухолевой терапии. В диссертационной работе оценена связь морфологических и генетических факторов с уровнем выживаемости пациентов с увеальной меланомой. Поэтому правильнее говорить о прогностической значимости изучаемых факторов, в частности: присутствие эпителиоидных клеток в опухоли, делеция хромосомы 3 являются прогностически (а не предиктивно) неблагоприятными факторами.

Имеющееся замечание не носит принципиального характера, не умаляет достоинств диссертационного исследования.

В ходе рецензирования возникли следующие вопросы:

1. Из текста диссертации: у 60 пациентов выявляли МТС УМ при сроках наблюдения от 1 до 129 месяцев (средний – 21 мес). Прокомментируйте, пожалуйста, раннее появление метастатического процесса (от 1 месяца); недостаточное обследование пациентов перед ТИАБ или агрессивное течение опухоли?

2. Ваше мнение: на каком этапе (диагностики, лечения) должно осуществляться взаимодействие окулиста и онколога?

Заключение

Диссертационная работа Яровой Веры Андреевны на тему «Прогностическая тонкоигольная аспирационная биопсия увеальной меланомы» является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной как для офтальмологии, так и для онкологии задачи – разработки технологии прогностической тонкоигольной аспирационной биопсии.

По актуальности темы, научной новизне, объему проведенных исследований и значимости полученных результатов диссертационная работа Яровой Веры Андреевны полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 №335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени по специальностям 14.01.07 – глазные болезни и 14.01.12 – онкология.

Ведущий научный сотрудник
научного отдела инновационных методов
терапевтической онкологии и реабилитации,
заведующий отделением химиотерапии
и инновационных технологий,
профессор отделения аспирантуры и ординатуры
отдела учебно-методической работы
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России, д.м.н.

Проценко С.А.

«26» июля 2020 г.

Подпись д.м.н. Проценко С.А. *заверяю*

Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России, кандидат биологических наук

Директор
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»
Минздрава России

А.М. Беляев
Киреева Г.С.

Контактная информация:
197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д.68
Телефон: + 7(812)439-95-55
Официальный сайт: <https://www.niioncologii.ru>
E-mail: oncl@rion.spb.ru



Юридический и почтовый адрес:

197758, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68

Телефон: (812) 43-99-555

Сайт в интернете: <https://www.nioncologii.ru>

E-mail: oncl@rion.spb.ru