

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Шишкина Михаила Михайловича
на диссертационную работу Левашова Ильи Андреевича
«Прогнозирование риска метастазирования увеальной меланомы на основе
тонкоигольной аспирационной биопсии», представленную на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям
3.1.5 – Офтальмология и 3.1.6 – Онкология, лучевая терапия.

Актуальность темы исследования

Риск метастазирования при лечении пациентов с меланомой хориоидеи остается не решенной проблемой в современной офтальмоонкологии. Молекулярное исследование образцов ткани опухоли во время лечения дает возможность прогнозировать степень риска метастазирования. До настоящего времени существуют спорные точки зрения на безопасность выполнения тонкоигольной биопсии, хотя многие офтальмоонкологи считают её применение вполне обоснованным. Страх перед возможной диссеминацией опухолевых клеток в орбиту при трансклериальном или транссклеральном заборе, предполагаемая возможность метастазирования через сосудистую систему глаза при повреждении опухоли в ходе биопсии – всё это обосновывает позиции противников прижизненной биопсии.

В то же время определение прогноза заболевания улучшает информированность пациентов, позволяет оптимизировать схему мониторинга метастазов и улучшить их раннюю диагностику.

Вероятность развития метастазов УМ определяется соотношением различных прогностических факторов: клинических, морфологических и генетических, при этом последняя категория оказывает наибольшее влияние на выживаемость пациентов с УМ. Оценка клинических факторов риска доступна всем пациентам с УМ, в то время как определение

морфологических и генетических факторов возможно только непосредственно на материале опухоли, который может быть получен при ее хирургическом удалении (энуклеация, блокэксцизия) или в результате биопсии. Учитывая органосохраняющие тенденции в локальном лечении УМ, особую актуальность имеет изучение технологий получения опухолевого материала, среди которых ключевым является тонкоигольная аспирационная биопсия (ТИАБ).

Таким образом, представленная автором цель – разработка системы прогнозирования риска метастазирования увеальной меланомы на основе оптимизированной технологии тонкоигольной аспирационной биопсии – обладает очевидной актуальностью и новизной.

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

Дизайн исследования составлен по проспективно-ретроспективному принципу, методологически корректно определены цель и задачи. Все научные и практические положения обоснованы достаточным количеством исследований, выполненных на большом клиническом материале (470 пациентов).

В диссертационной работе использованы наиболее современные методы офтальмологического и общего обследования пациентов, а также морфологические и генетические методы исследования опухолевого материала. Стоит отметить широкое применение различных методов статистической обработки данных (описательная статистика, определение нормального распределения, оценки достоверности различий с применением критериев Манна-Уитни, Уилкоксона, χ^2 (хи-квадрат) и Фишера, а также анализа выживаемости по методу Каплана-Майера и пропорциональных рисков Кокса).

Текст диссертации написан грамотно, хорошим литературным языком. Таблицы и рисунки сопровождают и дополняют логику повествования, формирования заключения и выводов.

Автореферат, а также опубликованные 9 печатных работ, из них 6 – в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) Министерства образования и науки РФ, и 1 патент РФ и 2 заявки на изобретение, полностью отражают содержание диссертационной работы.

Материалы диссертации неоднократно представлялись на ведущих отечественных и международных конференциях офтальмологической и онкологической направленности.

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

Научная новизна исследования не подлежит сомнениям.

Впервые показана возможность определения в субретинальной жидкости генетического материала УМ со специфическими мутационными изменениями.

Проведен детальный анализ локальных осложнений ТИАБ, по результатам которого показано, что процедура не приводит к развитию клинически значимых кровоизлияний, отслойки сетчатки, продолженному росту опухоли, экстрасклеральному росту, необходимости дополнительного органосохраняющего лечения и увеличению числа случаев энуклеации глаза.

На основании впервые проведенного сравнительного анализа выживаемости пациентов с УМ в статистически однородных по основным клиническим параметрам группам, в которых проводилась брахитерапия с ТИАБ или только брахитерапия, было показано отсутствие статистически значимой разницы по уровням 3- и 5-летней выживаемости.

Впервые показана связь делеции гена PPARG и амплификации гена MYC с выживаемостью пациентов с УМ.

Апробирована прогностическая панель, включающая определение оригинальных прогностических факторов – делеции гена PPARG и амплификации гена MYC.

Впервые проведен многосторонний анализ индивидуальной потребности пациентов с УМ в прогнозировании риска метастазирования.

Разработана комплексная система прогнозирования риска метастазирования УМ, включающая оценку клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов риска.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Значимость работы с научной и практической точки зрения заключается в том, что в рамках исследования была оптимизирована хирургическая техника прогностической ТИАБ при УМ, находящихся на крайней периферии глазного дна, и при помутнениях оптических сред, определена оптимальная зона наложения зажима на аспирационную трубку, описан способ ограничения кровоизлияния в субретинальном пространстве, предложен способ фиксации офтальмоаппликатора, позволяющий достичь более плотного его прилегания к поверхности склеры и биопсийному каналу. Представлен цельный клинический алгоритм ведения пациентов с УМ, которым выполняется прогностическая ТИАБ, включающий особенности подготовки, медикаментозного сопровождения, анестезиологического пособия, в том числе при различных видах органосохраняющего лечения. Впервые разработана и апробирована в клинической практике хирургическая техника получения материала субретинальной жидкости при УМ, на котором показана возможность проведения морфологического и молекулярно-генетического исследований.

Автором было продемонстрировано и доказано, что ТИАБ не связана с увеличением риска как локальной, так и системной диссеминации УМ.

Определена информативность «нативного» материала УМ, полученного в результате прогностической ТИАБ, по результатам исследования которого определена частота встречаемости клеточных типов УМ, мутаций в генах GNAQ, GNA11, EIF1AX, SF3B1, делеции гена PPARG и амплификации гена MYC. Показана состоятельность прогностической панели ТИАБ, использование которой позволяет оценивать риск метастазирования УМ.

Впервые были определены социально-демографические и психологические факторы, влияющие на желание пациента с УМ знать индивидуальный риск метастазирования, а также на положительное решение о проведении прогностической ТИАБ. Определены показания и противопоказания к прогностической ТИАБ, учитывающие психологические аспекты прогнозирования риска метастазирования УМ. Предложен способ стратификации прогноза пациентов с УМ по категориям «благоприятный», «средний» и «неблагоприятный» на основании разработанной комплексной системы прогнозирования риска метастазирования.

Практическая значимость диссертации определена внедрением в научно-клиническую и учебную деятельность головной организации, филиалов ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава РФ и ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава РФ. Материалы диссертации могут быть рекомендованы для дальнейшего внедрения в практику работы офтальмологических и онкологических учреждений, а также использованы в педагогическом процессе в курсе офтальмоонкологии, в частности при рассмотрении проблем, связанных с риском метастазирования увеальной меланомы.

Оформление диссертационной работы и оценка ее содержания

Диссертация построена в традиционном стиле, изложена на 149-ти страницах машинописного текста, содержит 6 глав, список литературы из 175 источников, из которых 157 – зарубежные, и иллюстрирована 35 рисунками и 20 таблицами.

Во введении автор описывает современное состояние проблемы прогнозирования метастазирования УМ, определяет нерешенные вопросы, связанные с хирургической техникой и безопасностью ТИАБ, а также интерпретацией результатов морфологических и молекулярно-генетических исследований, на основании чего устанавливает цель и

предлагает для ее реализации пять соответствующих задач, решение которых обеспечивает достижение поставленной цели.

В первой главе «Обзор литературы» диссертант описывает основные данные зарубежной и отечественной литературы по технологии прогностической ТИАБ. В этой главе представлена актуальная информация об эпидемиологии УМ, описаны базовые принципы классификации, диагностики и лечения этого заболевания. Подробно раскрыты особенности прогнозирования метастазирования УМ, основывающиеся на комбинации прогностических факторов из трех групп – клинические, морфологические и молекулярно-генетические. Отдельное внимание автор уделяет современным прогностическим панелям, что позволяет сформулировать следующий вывод – отсутствие единого прогностического подхода затрудняет стратификацию рисков метастазирования УМ.

В то же время выраженный прогресс в понимании молекулярно-генетических особенностей УМ и их влияния на риск метастазирования опухоли диктуют необходимость всестороннего изучения и совершенствования биопсийных технологий. Таким образом, первая глава исследования полностью обосновывает обозначенную актуальность и новизну работы.

Во второй главе «Материалы и методы исследований» автором представлена характеристика клинического материала и методов исследований.

Работа выполнена на большой выборке (суммарно 470 пациентов): 156 пациентов основной группы, в которой проводилась брахитерапия в комбинации с ТИАБ, 150 пациентов контрольной группы, которым проводилась только брахитерапия, 203 пациента с результатами прогностического тестирования вне зависимости от первичного метода

лечения и данные анкетирования 94 пациентов с целью анализа потребности в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования.

Офтальмологическая диагностика УМ проводилась с использованием всех современных методов ультразвуковой и оптической визуализации. Молекулярно-генетическое и цитологическое исследования проводились на базе специализированной молекулярно-генетической лаборатории с использованием методов высокочувствительной мутационно-специфической ПЦР-РВ и флуоресцентной гибридизации *in situ*. В рамках диспансерного наблюдения помимо общего офтальмологического осмотра также оценивались данные МРТ или УЗИ органов брюшной полости и КТ или рентгенографии органов грудной клетки.

Обработка данных проводилась с использованием целого ряда статистических инструментов: оценка достоверности по критериям Манна-Уитни, Уилкоксона, χ^2 (хи-квадрат) и Фишера, анализ риска метастазирования по методу Каплана-Майера и пропорциональной регрессии рисков Кокса, ROC-анализ в разработке комплексного прогностического подхода.

В третьей главе «Оптимизация хирургического этапа тонкоигольной аспирационной биопсии» диссертантом представлено описание хирургической техники ТИАБ. При трансвитреальной технике забора материала диссертант использует опыт витреоретинального хирурга: современные инструменты сверхмалых калибров – 25-27 гейдж, контактные линзы с различным углом скоса, современный операционный микроскоп с возможностью изменения угла наклона оптического блока. Для лучшей визуализации опухоли на периферии глазного дна автор применяет приёмы склеропрессии, эндоосветители, осветители-шандельеры, трансклеральную иллюминацию.

Им же предлагается оптимизация аспирационной биопсии: определение наиболее безопасной локализации зажима на аспирационную трубку с теоретическим обоснованием по закону Пуазейля, способ фиксации офтальмоаппликатора при брахитерапии для более равномерного облучения опухоли и биопсийного канала, способ получения субретинальной жидкости на фоне вторичной экссудативной отслойки при УМ, описаны и проиллюстрированы особенности проведения ТИАБ в сложных клинических ситуациях – при периферической локализации УМ, при выраженных помутнениях оптических сред, при проведении различных видов органосохраняющего лечения.

Несомненно новаторским можно считать предложение использовать для биопсии иглы с различным углом среза, что обеспечивает более безопасный забор материала при опухолях небольшого размера. Автор оправданно акцентирует внимание на возможных осложнениях при выполнении процедуры, но хотелось бы иметь более детальное описание используемых шприцов, величине вакуума создаваемого в аспирационной системе при трансквитреальном заборе материала.

Интересным для науки и практики представляется предлагаемая автором техника трансквитреального забора субретинальной жидкости у пациентов с меланомой хориоидеи.

В четвертой главе «Морфологические и молекулярно-генетические результаты тонкоигольной аспирационной биопсии» автор проводит анализ информативности полученного при помощи ТИАБ материала. Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности данной биопсийной технологии – общая информативность, определяемая как возможность верификации диагноза УМ цитологическим или молекулярно-генетическим методом, составила 91%. В качестве замечания должен отметить недостаточную наглядность макроскопической оценки количества забранного материала на

представленных фото (рис.14). Интересно, что эпителиодноклеточный состав опухоли по данным цитологического исследования подтвержден только в 11% наблюдений.

Приведены не только данные встречаемости различных цитологических и мутационных нарушений, но и результаты попарного анализа встречаемости, который показал целый ряд статистически значимых различий, в частности взаимоисключающую природу мутаций в генах *GNAQ* и *GNA11*, а также мутации *EIF1AX* с другими «драйверными» мутациями. Единичные случаи энуклеации также были подвергнуты детальному анализу, благодаря чему удалось выявить определенную степень расхождения заключений по материалам цитологического и гистологического исследований.

Связь морфологических и генетических факторов с выживаемостью пациентов оценивалась двумя статистическими методами – по типу «случай-контроль» и методом Каплана-Майера. Впервые было показано статистически значимое влияние на выживаемость делеции гена *PPARG*.

Пятая глава «Анализ безопасности тонкоигольной аспирационной биопсии» оценивает риски метастазирования УМ и их связь с ТИАБ. Эта часть исследования закладывает важную основу для масштабирования технологии прогностической ТИАБ в клинической практике, поэтому представлена выверенным и многосторонним анализом данных. Для ретроспективного сравнительного анализа выживаемости и оценки риска метастазирования у пациентов с УМ при проведении ТИАБ были сформированы основная (БТ+ТИАБ) и контрольная (БТ) группы. Стоит отметить наличие строгих и обоснованных критериев включения и исключения из исследования. Сведения о пациентах собирались проактивно: при отсутствии актуальной информации о пациентах в архиве учреждения производились запросы к руководителям органов регионального здравоохранения (министерства, департаменты

здравоохранения). Полученная в формате ответных писем информация позволила установить более детальную информацию о сроках наблюдения и статусах пациентов, которым проводилось лечение. Данная часть анализа выживаемости имела критически важное значение, поскольку вероятность обнаружения метастазов в группе пациентов, выбывших из-под диспансерного наблюдения, закономерно выше таковой у регулярно наблюдающихся в учреждении пациентов. Сформированные группы характеризовались статистически однородными клиническими параметрами, влияющими на развитие метастазов: возраст пациентов, высота и протяженность опухоли, юкстапапиллярная локализация, вовлечение цилиарного тела, экстрабульбарный рост. Общая медиана срока наблюдения составила более 5 лет.

Локальные осложнения описаны полноценно и с достаточным визуальным сопровождением. Проведенный анализ локальной безопасности ТИАБ продемонстрировал, что пункция опухоли не приводит к развитию клинически значимых кровоизлияний, отслойки сетчатки, продолженному и экстрасклеральному росту опухоли, необходимости дополнительного лечения, в том числе энуклеации глаза.

В шестой главе «Разработка комплексной системы индивидуального прогнозирования риска метастазирования увеальной меланомы» описываются в том числе результаты психологического анализа пациентов с УМ. Автором были определены основные проблемы и потребности этой категории пациентов: так, дополнительная информация после впервые установленного диагноза УМ потребовалась 63% пациентам, из них 35% обращались за вторым мнением к другим специалистам, 45% искали информацию в интернете и других ресурсах и 20% искали информацию во всех возможных источниках; дополнительной информации не потребовалось 37% пациентам. Среди основных мотивов индивидуального прогнозирования риска метастазирования отмечались

следующие: ощущение контроля ситуации и возможность проведения профилактических мер (78%), планирование дальнейшей жизни для себя и/или близких (47%), возможность участия в программах лечения метастатической формы УМ (35%), получение максимального количества информации о заболевании (28%). Дополнительно был проведен статистический анализ факторов, потенциально ассоциированных с пациентами «тревожного типа», т.е. среди тех, кто не имеет потребности в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования УМ из-за страха перед выявлением высокого риска развития метастазов и невозможности стабилизации психологического состояния при понимании степени риска.

На основании всех вышеуказанных данных автором были сформулированы основные показания и противопоказания к проведению прогностической ТИАБ, среди которых отмечаются не только клинические факторы, но и психологические особенности пациентов.

Логичным завершением работы стала разработка комплексной прогностической системы, в которой учитываются не только данные молекулярно-генетического тестирования, но также клинические и морфологические факторы. За счет увеличения выборки и включения в нее пациентов, которым проводилась энуклеация, удалось с большей точностью оценить влияние всех исследуемых прогностических факторов на риск метастазирования. Комплексная прогностическая система подразумевает суммирование общего количества баллов в зависимости от клинических (размер опухоли от +1 до +3 баллов, инвазия в цилиарное тело 0 или +2 балла, экстраокулярный рост 0 или +1 балл), морфологических (веретенноклеточный тип опухоли – 0 баллов, смешанноклеточный или эпителиоидноклеточный – +2 балла) и молекулярно-генетических (в зависимости от наличия мутации в гене *SF3B1* 0 или +1 балл, амплификации гена *MYC* – 0 или +1,5 балла,

делеции гена *PPARG* – 0 или +2 балла, мутации в гене *EIF1AX* – 0 или вычет 4 баллов) факторов прогноза. На основании этих данных удалось выделить три категории прогноза («неблагоприятный», «средний», «благоприятный»), продемонстрировавших их состоятельность и достоверное различие между собой.

В заключении отражены наиболее важные моменты исследования. Автор приводит анализ полученных результатов в контексте данных литературы.

Выводы построены логично на основании проведенного исследования, соответствуют поставленным задачам и конкретизируют наиболее значимые научные и практические результаты работы.

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 не имею, но для более полного представления о научном исследовании у меня есть несколько вопросов:

1. Как Вы объясняете обоснованность забора материала у пациентов после брахитерапии или применения гамма-ножа?
2. Учитывая низкую информативность материала, полученного из опухолей высотой до 3 мм, обоснован ли его забор при меланоммах такого размера?
3. Как Вы трактуете 20% наблюдений, в которых по данным цитологического исследования не удалось определить клеточный тип опухоли?

Заключение

Диссертационная работа Левашова Ильи Андреевича на тему «Прогнозирование риска метастазирования увеальной меланомы на основе тонкоигольной аспирационной биопсии» является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной как для офтальмологии, так и для онкологии задачи – разработки системы прогнозирования риска метастазирования увеальной меланомы на основе оптимизированной технологии тонкоигольной аспирационной биопсии.

По актуальности темы, научной новизне, объему проведенных исследований и значимости полученных результатов диссертационная работа Левашова Ильи Андреевича полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.5 – офтальмология и 3.1.6 – онкология, лучевая терапия, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени.

Профессор кафедры глазных болезней Института усовершенствования врачей ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ

доктор медицинских наук, профессор

Шишкин М.М.

Подпись д.м.н., профессора Шишкина М.М. заверяю

Ученый секретарь ректората Института усовершенствования врачей ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ

доктор медицинских наук, профессор

Матвеев С.А.

«04» сентября 2023г.

Юридический и почтовый адрес:

105203 г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 70

Телефон: +7(499)464-03-03

Сайт в интернете: www.pirogov-center.ru E-mail: iuv@pirogov-center.ru

