

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Ушаковой Татьяны Леонидовны

на диссертационную работу Макаревич Оксаны Олеговны «Эпидемиология, генетическая диагностика и лечение ретинобластомы у детей», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология

### **Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите**

Содержание диссертационной работы «Эпидемиология, генетическая диагностика и лечение ретинобластомы у детей», сформулированная цель исследования, 5 задач, 4 аргументированных положения, вынесенных на защиту, полученные автором результаты и сделанные выводы полностью соответствуют отрасли медицинские науки и специальности ВАК Республики Беларусь 14.01.12- онкология.

### **Актуальность темы диссертации**

Ретинобластома является орфанным заболеванием, в странах Европы заболеваемость составляет от 2,8 до 6,6 случаев на 1 млн. детей в возрасте от 0 до 14 лет. В связи с этим мало исследований проведено на больших когортах, подходы к лечению различны. Кроме того, даже в развитых странах большинство опухолей выявляются достаточно поздно (так в США 79% опухолей выявляются в стадиях D, E интраокулярной ретинобластомы), органосохраняющее лечение интраокулярной ретинобластомы всегда представляло трудности. В то же время в развитых странах высокие показатели общей выживаемости при ретинобластоме, что увеличивает количество семейных форм заболевания и диктует необходимость выполнения молекулярно-генетических методов диагностики для выявления врожденных форм заболевания с целью проведения медико-генетического консультирования при планировании семьи.

В настоящее время отсутствуют общепринятые стандарты лечения ретинобластомы у детей.

Также остается нерешенной проблема последовательности выполнения дорогостоящих методов молекулярно-генетической диагностики для определения герминальных нарушений в гене *RB1*.

Определение распространенности ретинобластомы в отдельных районах Республики Беларусь ранее не проводилось.

В связи с этим поставленная Макаревич О.О. цель диссертационного исследования: повысить эффективность органосохраняющего лечения ретинобластомы у детей с использованием локальных методов доставки цитостатических препаратов и определить встречающиеся патогенные нарушения в гене *RBI* у пациентов с ретинобластомой в Республике Беларусь – является актуальной научной проблемой.

### **Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту**

Клинико-эпидемиологический анализ заболеваемости ретинобластомой в Республике Беларусь с уточнением возрастных и территориальных особенностей распространения заболевания ранее не проводился. При проведении эпидемиологического анализа выявлено, что самый высокий показатель заболеваемости ретинобластомой в Республике Беларусь отмечен у пациентов в возрасте до 1 года. Выявлены районы, где заболеваемость ретинобластомой выше, на первом месте Дятловский район Гродненской области, также выделяется Бешенковичский район Витебской области и Червеньский район Минской области. В Червеньском районе выявлена семейная ретинобластома с одной и той же мутацией у членов семьи, выявлен носитель мутантного аллеля. В Дятловском районе нет случаев семейной ретинобластомы среди пациентов, заболевание у которых было выявлено за период 1997-2021 гг. Определение территориальной вариабельности в распространении заболевания создает предпосылки для установления причин данной изменчивости.

За период 1997-2021 гг. лечение пациентов проходило по трем различным клиническим протоколам, однако ранее не оценивались результаты проводимого лечения. Впервые определены показатели общей и бессобытийной выживаемости, а также показатели сохранности глаз в ретроспективных группах. Модифицирован протокол RBL-2003 (протокол RBL-2016): внедрены локальные способы доставки цитостатических препаратов, а также отменена системная химиотерапия для малых форм интраокулярной ретинобластомы (группы А, В, С). При оценке результатов разработанного протокола RBL-2016 было выявлено увеличение показателя сохранности глаз в группах D и E интраокулярной ретинобластомы. На основании протоколов RBL-2003 и RBL-2016, доказавших свою эффективность при проведении анализа, был разработан и утвержден Министерством здравоохранения Республики Беларусь раздел клинического протокола «Диагностика и лечение детей с онкологическими и



гематологическими заболеваниями», содержащий раздел по лечению ретинобластомы, написанный О.О. Макаревич.

Впервые разработан и применен у 45 пациентов алгоритм применения молекулярно-генетических методов для выявления патогенных нарушений у пациентов с ретинобластомой. Обосновано применение секвенирования, мультиплексной амплификации лигированных проб и флюоресцентной *in situ* гибридизации для выявления патогенных нарушений в гене *RB1*. Выявление герминальных нарушений в гене *RB1* у белорусских пациентов с ретинобластомой ранее не проводилось. Кроме того, разработана панель праймеров для выполнения реакций амплификации и терминации для проведения секвенирования, изложенная в инструкции по применению метода, утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь. Определены 5 патогенных нарушений гена *RB1*, не описанные в международных базах данных

#### **Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа основана на изучении данных 168 пациентов с ретинобластомой, проходивших диагностику и лечение в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии за период с 1997 по 2021 годы. Исследование выполнено в соответствии с поставленной целью диссертационной работы. Задачи исследования, сформулированные автором, соответствуют поставленной цели. Все положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, научно обоснованы.

Методология диссертационного исследования соответствует поставленным задачам, все расчеты проводились современными методами статистического анализа с использованием компьютерных статистических программ. Для оценки выживаемости пациентов применялся метод Kaplan-Meier. Доверительные интервалы оценки выживаемости рассчитывались на основе оценки стандартной ошибки. Для проверки гипотезы использован log-rank тест в сравнении двух кривых выживаемости. Качественные показатели, представленные частотами и процентами, сравнивали с помощью критерия  $\chi^2$  и точного критерия Фишера. В исследовании был принят уровень статистической значимости  $p < 0,05$ .

Достоверность результатов не вызывает сомнений, обусловлена достаточным количеством наблюдений, оптимальным дизайном исследования и использованием адекватных методов исследования.

## **Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию**

Научная ценность полученных результатов не вызывает сомнений. Итоги проведённой работы имеют большое научное и практическое значение. Результаты исследования были включены в раздел клинического протокола «Диагностика и лечение детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями», утверждённого Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

Социальная и экономическая важность исследования заключается в том, что разработанный алгоритм определения мутаций в гене RB1 позволяет оптимизировать использование методов молекулярно-генетической диагностики. Благодаря этому алгоритму можно выявлять наследственные формы заболевания, что даёт возможность проводить медико-генетическое консультирование и предотвращать возникновение семейных случаев заболевания при планировании семьи.

Разработан подход к выполнению секвенирования гена RB1, изложенный в инструкции по применению «Метод определения мутации в гене RB1 для диагностики ретинобластомы».

Комплексный подход к лечению ретинобластомы способствует сохранению зрения у большего числа пациентов, что, в свою очередь, снижает вероятность потери трудоспособности в будущем.

### **Опубликованность результатов диссертации в научной печати**

Полученные в диссертационной работе результаты опубликованы в 11 научных работах, из них 6 статей в научных журналах, входящих в перечень ВАК Республики Беларусь, 1 статья в рецензируемом журнале, не включенном в перечень, общим объемом 4,4 авторских листа и 2 тезиса в сборниках научно-практических конференций. Утверждена и издана инструкция по применению. Утвержден и издан клинический протокол «Диагностика и лечение детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями», содержащий раздел по лечению ретинобластомы. Результаты работы широко обсуждены на международных и республиканских научных форумах. Таким образом, выносимые на защиту положения и выводы диссертации достаточно апробированы и подтверждены публикациями.



### **Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК**

Оформление диссертационной работы Макаревич Оксаны Олеговны «Эпидемиология, генетическая диагностика и лечение ретинобластомы у детей» полностью соответствует требованиям ВАК Республики Беларусь. Диссертация написана в традиционном стиле. Разделами научного труда являются: введение, общая характеристика работы, аналитический обзор литературы, четыре главы с описанием проведенных исследований и полученных результатов, заключение, выводы, библиографический список, включающий 194 источника литературы, список публикаций соискателя, приложений. Диссертация изложена на русском языке, содержит большое количество иллюстраций (20 рисунков). Полный объем диссертации составляет 116 страниц.

Во введении обоснована актуальность темы, цель и задачи исследования. Первая глава представляет собой аналитический обзор литературы, во второй главе представлены информация о материалах и методах исследования, описан дизайн исследования. В третьей главе автор проанализировал заболеваемость ретинобластомой в Республике Беларусь, выявил возрастную и территориальную изменчивость в заболеваемости, провел клинический анализ случаев ретинобластомы за период 1997-2021 гг. Четвертая глава посвящена проведению анализа результатов лечения ретинобластомы за периоды 1997-2002 гг., 2003-2015 гг., 2016-2021 гг. В пятой главе описывается алгоритм применения молекулярно-генетических методов диагностики для определения герминальных нарушений в гене *RBI*, описаны все выявленные нарушения, приведены конкретные клинические случаи, в том числе выявлены семейные формы заболевания. Заключение представлено в виде выводов и рекомендаций по практическому использованию результатов, которые сформулированы корректно и полностью обоснованы.

Автореферат диссертации соответствует содержанию работы. Работа написана грамотным научным языком. Принципиальных замечаний по работе не имеется. В ходе анализа выполненной диссертационной работы возникли вопросы дискуссионного характера:

### **Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует**

Диссертация О.О. Макаревич является самостоятельно выполненной научной работой. Личный вклад диссертанта заключался в разработке и проведении инъекций в полость стекловидного тела при ретинобластоме способом, позволяющим избежать опухолевой диссеминации, в сборе биологического материала, обработке образцов периферической крови



пациентов и их родственников, выделении лимфоцитов и ДНК, выполнении реакций амплификации и секвенирования по методу Сэнгера, интерпретации данных, полученных в ходе выполнения секвенирования, разработке и заполнении электронной базы данных, формулировке выводов, оформлении кандидатской диссертации, подготовке публикаций самостоятельно и в соавторстве.

Анализ материалов, представленных О.О. Макаревич, свидетельствует о том, что в своей отрасли и области знаний диссертант является специалистом высокой квалификации, способен вести грамотно и самостоятельно научную работу.

Таким образом, научная квалификация О.О. Макаревич соответствует степени кандидата медицинских наук, на которую она претендует, что подтверждается достаточным количеством научных публикаций по теме диссертации и докладов на научных форумах, внедрением в практическое здравоохранение, высоким качеством проведенной работы.

### **Заключение**

Диссертация О.О. Макаревич «Эпидемиология, генетическая диагностика и лечение ретинобластомы у детей», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12 – онкология является научно-квалификационным исследованием, содержащим новое решение актуальной научно-практической задачи, касающейся совершенствования методов органосохраняющего лечения ретинобластомы, а также оптимизации применения молекулярно-генетических методов для выявления пациентов с герминальной формой заболевания.

По своей актуальности, научной и практической значимости, объему проведенных исследований работа соответствует требованиям пунктов 20 и 21 «Положения о присуждении научных степеней и званий» предъявляемых к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.12- онкология.

Ученая степень кандидата медицинских наук может быть присуждена Макаревич О.О. за:

- Разработку комплексного подхода к лечению интраокулярной ретинобластомы, позволяющего сохранять большее количество глаз с большими внутриглазными опухолями с применением интравитреальных инъекций цитостатических препаратов и

интраартериальной химиотерапии, изложенных в клиническом протоколе «Диагностика и лечение детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями»;

- Проведение анализа заболеваемости ретинобластомой в Республике Беларусь за период 1997-2021 гг. и выявление территориальных и возрастных особенностей заболевания;
- Разработку подхода к выполнению секвенирования гена RB1, заключающегося в разработке комплекса праймеров для проведения реакций амплификации и секвенирования, а также в обработке данных реакций на практике.

Ведущий научный сотрудник  
детского онкологического отделения хирургических  
методов лечения с проведением химиотерапии №1  
(опухоль головы и шеи) НИИ детской онкологии и  
гематологии академика РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ  
«НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава  
России, доктор медицинских наук

Ушакова Татьяна Леонидовна

Подпись Ушаковой Татьяны Леонидовны заверяю:  
Ученый секретарь  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России,  
кандидат медицинских наук



Кубасова Ирина Юрьевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24  
тел. 8-499-324-24-24,  
email: [info@ronc.ru](mailto:info@ronc.ru)  
официальный сайт [www.ronc.ru](http://www.ronc.ru)

25 ноября 2024 года