

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО СПбГПМУ
Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор



В.В. Бржеский

«30» Декабрь 2025г.

ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической значимости диссертационной работы Щекина Владимира Ивановича на тему «Взаимодействие элементов микроокружения и опухолевых клеток в неметастатической семиноме; прогностическое значение», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научным специальностям 1.5.23. Биология развития, эмбриология и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Актуальность темы выполненной работы

Герминогенные опухоли (ГО) – наиболее частые злокачественные новообразования у мужчин с пиком заболеваемости в 35 – 40 лет; на долю сеиномы приходится 50 – 60 % случаев. Она характеризуется высокой чувствительностью к лечению и высокими показателями общей 5-летней выживаемости; однако у 15 % больных с неметастатической сеиномой регистрируется рецидив заболевания. Согласно pTNM-системе, неметастатическая сеинома включает в себя IA, IB, IS, IIA, IIB, IIC, IIIA, IIIB, IIIC стадии опухолевого роста.

Предпосылки к возникновению сеиномы формируются задолго до появления герминогенной неоплазии in situ (Germ cell neoplasia in situ, GCNIS) – еще в антенатальном периоде онтогенеза. Часть мигрирующих первичных половых клеток, заселяющих зачаток гонады (гоноциты), может «задерживаться в незрелом состоянии» и становиться источником развития GCNIS. Атипичные герминогенные клетки сохраняют иммунофенотип первичных половых клеток (экспрессируют PLAP, OCT3/4, CD117) и остаются в латентном состоянии до

наступления пубертатного возраста. В период гормональной перестройки изменения со стороны элементов микроокружения создают условия для опухолевой трансформации этих клеток в семиному и/или несеминомные опухоли.

Прогноз у пациентов с семиномой, особенно при локализованной форме, как правило, благоприятный и определяется рядом клинических и морфологических критериев. В этом направлении перспективным представляется анализ количественно-качественных характеристик элементов микроокружения и опухолевых клеток, а также анализ состояния питающих опухоль кровеносных сосудов и тканевого матрикса стромы.

Известно, что в условиях неоплазии возрастает количество Tregs лимфоцитов и других иммунных клеток, некоторые из которых обладают противоопухолевыми свойствами. Однако количественно-пространственные сравнения CD4/CD8/CD19, изучение фенотипических особенностей макрофагов (CD68, CD163) в норме, в перитуморальной зоне и на pT1- и pT2-стадиях сеиномы ранее не проводились. По данным мета-анализов высокая плотность CD163 опухоль-ассоциированных макрофагов связана с неблагоприятным прогнозом и более высоким метастатическим потенциалом при ряде солидных опухолей. В единичных исследованиях ОАМ при ГО выявлена их склонность к проявлению клеточной пластичности, однако в современной научной литературе отсутствуют данные о количественных изменениях этих иммунных клеток и их прогностической ценности при сеиноме.

Изучение регуляторного значения тучных клеток в развитии сеиномы, несомненно, актуально, поскольку известна их роль в поддержании локального гомеостаза яичка в норме, а также стимулирующее влияние на экстрацеллюлярный матрикс и ремоделирование стенки извитых семенных канальцев. Взаимоотношение ТК с атипичными клетками напрямую зависит от их типа, который определяется химическим составом медиаторов секрета: повышенная инфильтрация триптаза-позитивными тучными клетками ассоциирована с неблагоприятным прогнозом при некоторых солидных опухолях, поскольку этот белок участвует в ангиогенезе и ремоделировании экстрацеллюлярного матрикса, тогда как химаза и карбоксипептидаза-A3 ТК

способствуют деградации межклеточных контактов и стимуляции ангиогенеза. Поэтому не исключено, что угнетение этих механизмов в семиноме, в зависимости от ее стадии, также может иметь прогностическое значение. Параллельно необходимо комплексно сопоставить их количественно-пространственное распределение в норме и в перитуморальной зоне опухоли на pT1- и pT2-стадиях, чтобы оценить степень активации компенсаторно-приспособительных и защитных факторов.

Бесспорно, что в развитии любой неоплазии (в том числе – сеиномы) ключевую роль играет состояние локального иммунного процесса, разыгрывающегося как в самой опухоли, так и в перитуморальной зоне: ее структурные элементы способны либо сдерживать распространение опухоли, либо способствовать ее прогрессии.

Известно, что в физиологическом морфогенезе семенных канальцев важная роль принадлежит взаимоотношению первичных половых клеток с клетками микроокружения, в первую очередь – с sustentоцитами. При формировании условий опухолевого роста для «отклонившихся от заданного курса развития» первичных половых клеток элементы микроокружения также могут иметь потенциально важное значение, поскольку способны участвовать в инициации их неконтролируемого размножения и нарушении дифференцировки.

Резюмируя вышесказанное, данная проблема носит многогранный характер, а ее решение находится на стыке нескольких фундаментальных дисциплин, таких как патологическая анатомия и клеточная биология. Вместе с тем анализ взаимосвязанных первопричин и их последствий, коренится в антенатальном онтогенезе – закладке и миграции предшественников половых клеток на ранних стадиях эмбриогенеза. Появление герминогенной аплазии как лидирующего триггера сеиномы указывает на нарушение физиологических канонов биологии развития.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа Щекина Владимира Ивановича посвящена выявлению взаимодействий элементов микроокружения и неопластических

клеток в неметастатической семиноме pT1- и pT2-стадий, их связи с локальной прогрессией. Полученные результаты и выводы имеют большое теоретическое и практическое значение, они расширяют представления о сперматогенезе и его микроокружении, состоянии иммунного компонента, а при сопоставлении количественных и пространственных характеристик семиномы подтверждают значение эмбрионального фактора в развитии герминальной неоплазии, показывают ключевую роль реактивных и адаптационных механизмов в прогрессировании опухоли. Они могут быть использованы при планировании научных исследований медицинского направления и в практической работе в области здравоохранения, что является наиболее важным в онкологической помощи населению, особенно в трудоспособной группе.

Новизна исследования и полученных результатов

На основании сравнительного морфологического анализа сперматогенеза и его микроокружения, особенно иммунного компонента, а также при сопоставлении количественных и пространственных характеристик семиномы подтверждено значение эмбрионального фактора в развитии герминальной неоплазии, показана ключевая роль реактивных и адаптационных механизмов в прогрессировании опухоли.

Впервые показано увеличение экспрессии транскрипционного фактора NF-κB в миелоидных клетках (лимфоцитах, макрофагах) и атипичных клетках семиномы: с одной стороны, это влияет на интенсивность митотического деления этих клеток, с другой стороны – приводит к усилению воспалительной реакции и ангиогенезу, а также ремоделированию экстрацеллюлярного матрикса. Данная активация NF-κB в опухоли и ее микроокружении способствует инвазии и прогрессии. В нормальном яичке иммуномечение на NF-κB наблюдается преимущественно в sustentоцитах и в меньшей степени в сперматогенных клетках и интерстициальных эндокриноцитах. При сравнении перитуморальной зоны семиномы выявлено увеличение количества CD3+, CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов прямо-пропорциональное pT-стадии, при отсутствии количественных изменений CD19+ В-лимфоцитов. Сравнительный анализ плотности лимфоцитарного инфильтрата в семиноме не продемонстрировал

статистически значимых различий между стадиями; при этом численность всех субпопуляций была гораздо выше, чем в нормальном яичке. Доля Treg FOXP3 лимфоцитов, отвечающих за иммуносупрессию, была незначительной, что, по-видимому, влияет на благоприятный прогноз. Установлено, что иммунное микроокружение семиномы способствует фенотипической пластичности опухоль-ассоциированных макрофагов в проопухолевый/противовоспалительный подтип (CD163): их количество прямо пропорционально pT-стадии, при этом отмечается тенденция к расположению в центральных зонах опухоли при неизменной численности CD68. Ко-экспрессия CD163 с IL-10 и взаимодействие данного фенотипа ОАМ с атипичными клетками, продуцирующими IL-10, указывают на их лидирующую роль в иммуносупрессивных каскадах, направленных на модуляцию воспалительной реакции и приводящих к опухолевой прогрессии. Подтверждена ключевая проангиогенная роль CD163+ ОАМ в канцерогенезе семиномы при оценке распределения CD31+ кровеносных сосудов. В то же время маркировка на CD163 практически отсутствовала в перитуморальной зоне и интерстициальной ткани нормального яичка. Количество CD68 макрофагов в семиноме не изменяется в зависимости от ее стадии, а в перитуморальной зоне их численность сопоставима с нормальным яичком, но снижается на pT2-стадии. При сравнительном анализе семиномы выявлено увеличение доли TGF- β + иммунных клеток опухолевого микроокружения, прямо пропорционально ее стадии. Обнаруженный признак в совокупности с данными распределения MMP-3 говорит об участии в местной воспалительной реакции и моделировании экстрацеллюлярного матрикса как факторов, в том числе усиливающих опухолевую прогрессию. Установлено, что количество Tryptase-, Chymase- и СРА3-позитивных тучных клеток снижается обратно пропорционально pT-стадии нематастатической семиномы, что можно рассматривать в качестве одного из механизмов уклонения опухоли от дополнительного проопухолевого воздействия тучных клеток. Несмотря на преимущественно периваскулярное (Tryptase+CD31) расположение тучных клеток, их незначительное количество снижает реализацию ими проангиогенных свойств. Подтверждено большое количество ТК в норме в интерстициальной ткани яичка; впервые показано, что их численность резко возрастает в

перитуморальной зоне семиномы на pT1-стадии, что указывает на мобилизацию эффекторного звена локального иммунитета, обеспечивающего ограничение распространения опухоли, но затем отмечается феномен стремительного падения их доли на pT2-стадии.

Впервые установлено, что повышение предоперационного уровня β -ХГЧ, инвазия в белочную оболочку и некроз опухоли совместно с параметрами модели EAU 2023 (размер/RTI/LVI) могут рассматриваться как стратификационные факторы риска развития рецидива при неметастатической семиноме. На основании количественной характеристики CD163 макрофагов выявлена вероятность возникновения рецидива неметастатической семиномы, что позволяет использовать данный показатель в качестве прогностического маркера, AUC которого = 0.64.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость научной работы прежде всего основывается на экскурсе в антенатальное развитие яичка и сопоставлении с биологией герминогенной опухоли – семиномы, «краеугольный камень» развития которой заложен на стадии индифферентной гонады. Отсутствие sustentоцитов препятствует своевременной дифференцировке примордиальных половых клеток, инициирует их неконтролируемое митотическое деление, приводящее к кластеризации и неоплазии в постнатальном периоде онтогенеза. С другой стороны происходит сбой в механизмах пролиферации, дифференцировки и апоптоза ввиду нарушений молекулярных сигнальных путей, в том числе со стороны элементов микроокружения. С другой стороны, в диссертационном исследовании расширены представления об участии иммунных клеток в поддержании локального гомеостаза в яичке в норме и мобилизации реактивных и адаптационных механизмов при возникновении неопластической трансформации сперматогенных клеток. Гистоархитектоника опухолевого микроокружения, преимущественно иммуносупрессивного характера, обусловлена, прежде всего, цитокиновой осью IL-10/TGF- β , тесно ассоциированной с CD163 опухоль-ассоциированными макрофагами.

Пространственный анализ иммунофенотипа макрофагов и тучных клеток нормальной, перитуморальной зоны и опухолевой ткани расширяет данные о гистотопографических паттернах и клеточной пластичности иммунных клеток, описывая регуляторные и интегративные механизмы, определяющие морфофункциональную целостность ткани в постнатальном периоде онтогенеза.

Таким образом, внесен вклад в понимание биологии развития опухолевого микроокружения неметастатической семиномы в зависимости от pT-стадии. Полученные количественно-пространственные характеристики лимфоидного инфильтрата (CD3, CD4, CD8 и CD19), макрофагов (CD68, CD163) и тучных клеток (Tryptase, Chymase, CPA3) при взаимодействии с нормальными и атипичными сперматогенными клетками (CD117, PLAP, OCT3/4) на фоне усиления ангиогенеза, уточняют фундаментальные закономерности сперматогенеза в постнатальном периоде онтогенеза и развитие герминальной неоплазии. На клеточном уровне, где ключевую роль играют механизмы морфогенеза, роста и межклеточных взаимодействий, включая индукционные эффекты при патологическом состоянии.

Практическая значимость работы заключается в дополнении существующих критериев стратификации на группы риска рецидива пациентов с неметастатической семиномой с использованием воспроизводимых в клинической практике критериев, таких как предоперационный уровень β -ХГЧ, инвазия в белочную оболочку и некроз опухоли.

В патоморфологической практике обосновано дополнительное использование панели иммуногистохимических маркеров CD68, CD163, Tryptase, Chymase и CPA3 с их количественной оценкой в дополнение к классическим факторам риска рецидива (RTI, LVI, размер).

В результате проведенного исследования решена актуальная научная задача – выявлены морфологические изменения элементов опухолевого микроокружения, их взаимодействие с атипичными герминогенными клетками неметастатической семиномы pT1- и pT2-стадий, раскрыты механизмы мобилизации реактивных и адаптационных факторов в перитуморальной зоне и при опухолевой прогрессии; определен уровень прогностической значимости CD163 макрофагов.

Личный вклад автора

Все этапы проведенного научного исследования: постановка цели и задач, выбор методов, получение, анализ и статистическая обработка результатов, формулирование основных положений и выводов, теоретической и практической значимости, а также новизны полученных результатов, выполнены автором самостоятельно. Автором лично проведены подбор и анализ научной литературы в русле выбранной темы, разработан дизайн исследования, скомплектованы базы данных и цифровой архив изображений: к анализу привлечен комплекс современных морфологических методов. В ходе реализации научной работы диссертант лично выполнял анализ электронной медицинской документации, гистологическое, гистохимическое (окрашивание толуидиновым синим), морфометрическое и иммуногистохимическое исследования (PLAP, OCT3/4, CD117, Ki-67, TUNEL, NF-κB, CD3, CD4, CD8, CD19, FOXP3, CD68, CD163, Tryptase, Chymase, CPA3, IL-10, TGF-β, MMP-3, CD31, α-SMA, CD34), а также проводил статистический анализ полученных результатов. Диссертантом в соавторстве подготовлены к печати публикации по теме диссертационной работы.

Рекомендации по использованию результатов исследования

Дальнейшие исследования данной тематики демонстрируют широкие перспективы и возможности для раскрытия механизмов сперматогенеза, развития яичка, герминальной неоплазии и канцерогенеза. Такие работы могут быть успешно реализованы на базе лабораторий, занимающихся изучением проблем в области медицинской эмбриологии, биологии развития, онкологии, в том числе детского и подросткового возраста. Особый интерес представляют научные площадки, оснащенные современным оборудованием для проведения молекулярно-биологических и молекулярно-генетических исследований.

При патоморфологическом исследовании микропрепаратов семиномы, особенно у пациентов группы промежуточного риска рецидива, целесообразно дополнительно применять панель иммуногистохимических антител к CD68, CD163, Tryptase, Chymase и CPA3 с последующей количественной оценкой. Снижение маркеров тучных клеток при одновременном увеличении CD163

опухоль-ассоциированных макрофагов следует рассматривать как признак более высокого риска рецидива и основание для отнесения пациента к соответствующей группе. При стратификации пациентов с семиномой после хирургического лечения врачом-онкологом, помимо параметров модели EAU 2023 (размер/RTI/LVI), следует учитывать повышение предоперационного уровня β -ХГЧ ($> 5,3$ мЕД/мл), наличие инвазии в белочную оболочку и наличие некроза опухоли. Эти признаки необходимо оценивать совместно с параметрами модели EAU 2023 (размер/RTI/LVI). При наличии одного изолированного признака либо сочетания нескольких признаков пациента следует относить к группе более высокого риска.

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебную работу урологического отделения с химиотерапией Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в учебный процесс Научно-образовательного ресурсного центра «Инновационные технологии иммунофенотипирования, цифрового пространственного профилирования и ультраструктурного анализа» (Молекулярной морфологии) федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы».

Количество печатных работ

По результатам исследования автором опубликовано 6 работ, в том числе 1 научная статья в изданиях из базы данных RSCI, 1 статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 1 публикация в сборнике материалов международных и всероссийских научных конференций, 1 патент на изобретение.

Достоинства и недостатки оформления диссертации

Диссертация, изложенная на 206 страницах машинописного текста, построена по классическому типу: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы, включающий 146 источников (отечественные – 12, зарубежные – 134).

Во введении автором подчеркнута актуальность и степень разработанности темы, сформулирована цель и поставлены задачи, показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе – обзор литературы, автор провел анализ современного состояния изучаемой проблемы, привел данные о морфологических, молекулярно-биологических и молекулярно-генетических изменениях сперматогенеза в сравнительном эмбриональном, антенатальном и постнатальном онтогенезе, проводя параллели с герминальной неоплазией. В заключении по обзору литературы автор подчеркивает необходимость проведения более детального морфологического и молекулярно-биологического анализа сперматогенного эпителия и развития семиномы, роль элементов опухолевого микроокружения в биологии атипичных сперматогенных клеток.

Во второй главе автором подробно представлены исчерпывающие сведения о материалах и методах диссертационного исследования, где отдельно следует подчеркнуть использование автором передовых методик морфологического исследования – мультиплексного иммуногистохимического анализа, TUNEL, картирования семиномы и другие.

Далее следуют главы, посвященные собственным результатам и их обсуждению. Диссертация проиллюстрирована 62 рисунками (микрофотографиями, фотоколлажами, рисунками-графиками), 23 таблицами.

В заключении автор приводит итог выполненного диссертационного исследования.

Диссертация В.И. Щекина характеризуется логичностью, целостностью и последовательностью изложения материала, четкостью и ясностью формулировок

цели, задач и положений, выносимых на защиту. Отдельно стоит отметить наличие большого количества высококачественного иллюстративного материала гистологических микропрепаратов, подтверждающих результаты выполненного исследования. Заключение и выводы, представленные по итогам проведенного комплексного исследования, соответствуют поставленной цели и задачам.

Принципиальных замечаний и вопросов по содержанию диссертационной работы нет.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Щекина Владимира Ивановича на тему «Взаимодействие элементов микроокружения и опухолевых клеток в нематастатической семиноме; прогностическое значение», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.23. Биология развития, эмбриология и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по выявлению морфологических изменений элементов опухолевого микроокружения, их взаимодействия с атипичными герминогенными клетками нематастатической сеиномы pT1- и pT2-стадий, раскрытию механизмов мобилизации реактивных и адаптационных факторов в перитуморальной зоне и при опухолевой прогрессии; определению уровней прогностической значимости CD163 макрофагов, имеющей существенное значение для биологии развития, эмбриологии и онкологии, лучевой терапии, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 г. (с изменениями, утвержденными: приказом №1179 от 29.08.2023 г., приказом №0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Щекин Владимир Иванович, заслуживает присуждения искомой ученой степени по научным специальностям 1.5.23. Биология развития, эмбриология (медицинские науки) и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (медицинские науки).

Отзыв на диссертационную работу В.И. Щекина подготовлен профессором кафедры гистологии и эмбриологии имени профессора А.Г. Кнорре, доктором биологических наук, доцентом М.В. Столяровой и заведующей кафедрой онкологии, детской онкологии и лучевой терапии, доктором медицинских наук, доцентом С.А. Кулевой. Отзыв заслушан и одобрен на совместном заседании кафедры гистологии и эмбриологии им. проф. А.Г. Кнорре ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России и кафедры онкологии, детской онкологии и лучевой терапии ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России (протокол №5 от 30.12.2025 г.).

Профессор кафедры гистологии и эмбриологии им. проф. А.Г. Кнорре ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России, доктор биологических наук (1.5.22. Клеточная биология), доцент

 Марина Владимировна Столярова

Заведующий кафедрой онкологии, детской онкологии и лучевой терапии ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России, доктор медицинских наук (3.1.6. Онкология, лучевая терапия; 3.1.25. Лучевая диагностика), доцент

 Светлана Александровна Кулева

«30» «декабря» 2025 г.

Подпись	<i>Столяровой М.В.</i>
удостоверяется	<i>Кулевой С.А.</i>
« 30 »	12 2025 г.
Нач. отдела делопроизводства СПб ГПМУ	<i>[Signature]</i>
	Е.Н. Майорова

Подпись д.б.н., доц. М.В. Столяровой и д.м.н., проф. С.А. Кулевой заверяю:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России). Адрес: 194100, г. Санкт-Петербург, улица Литовская, дом 2. Тел.: +7(812)295-06-46; Web-сайт: <https://www.gpmu.org/>; E-mail: spb@gpmu.org