

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, академика РАН Матвеева Всеволода Борисовича на диссертационную работу Щекина Владимира Ивановича на тему «Взаимодействие элементов микроокружения и опухолевых клеток в нематастатической семиноме; прогностическое значение», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.23. Биология развития, эмбриология и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Актуальность избранной темы

Герминогенные опухоли – наиболее частые злокачественные новообразования у мужчин молодого возраста. Для клинической онкологии принципиально важно, что даже при высокой эффективности лечения и благоприятной 5-летней выживаемости у пациентов с семиномой I стадии сохраняется риск рецидива (до 15 %). В практической работе это формирует устойчивую потребность в дополнительных прогностических факторах, позволяющих точнее оценивать индивидуальный риск и совершенствовать персонализированное лечение.

Особенность диссертационной работы В.И. Щекина заключается в многоэтапном исследовательском подходе. Автор дополняет существующие представления о лабораторных и патоморфологических маркерах обязательной диагностики.

Прогноз у пациентов с семиномой, особенно при локализованной форме, как правило, благоприятный и определяется рядом клинических и морфологических критериев. Однако перспективным представляется анализ количественно-качественных характеристик элементов микроокружения и опухолевых клеток, а также степень васкуляризации и состояние стромального компонента.

Бесспорно, особый интерес представляет количественно-пространственный сравнительный анализ активированных лимфоцитов, макрофагов и тучных клеток в опухоли и ее перитуморальной зоне, так как их численность может быть связана с неблагоприятным прогнозом и обладать более высоким метастатическим потенциалом при ряде солидных опухолей. При этом в специализированной литературе по данной

проблеме отсутствуют данные о количественных изменениях большинства иммунных клеток и их прогностической ценности при неметастатической семиноме.

Резюмируя вышесказанное: противоречивость результатов о количественных и качественных характеристиках элементов опухолевого микроокружения в неметастатической семиноме актуализирует необходимость комплексного исследования с использованием современных морфологических методов и онкологических подходов диагностики, что позволит максимально охарактеризовать элементы опухолевого микроокружения, установить их роль в прогрессии этого заболевания, дополнить анализ клинико-морфологическими факторами, тем самым повысив достоверность прогностических выводов. Ожидаемый результат обеспечит повышение персонализированного прогноза, оптимизируя интенсивность последующего динамического наблюдения.

Таким образом, диссертационная работа Щекина Владимира Ивановича является актуальной и представляет научный интерес. Работа носит комплексный характер и выполнена на стыке двух специальностей: практическая значимость определяется задачами онкологии, тогда как теоретическая – опирается на биологию развития, которая выступает ключом к интерпретации выявленных закономерностей.

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

Обоснованность положений подтверждается объёмом и структурой материала. Сформированы группы пациентов с неметастатической семиномой pT1- и pT2-стадий ($n = 96$), а также использованы парафиновые блоки нормальных яичек ($n = 21$). Применённые критерии включения и исключения обеспечивают сопоставимость наблюдений и корректность выводов.

Методологически работа основывается на современных методах исследования: гистологический, гистохимический, иммуногистохимический (включая мультиплексный) методы, а также статистические. Представлено сопоставление результатов с данными других исследователей, что повышает интерпретационную устойчивость выводов.

Статистическая обработка описана детально: тест Шапиро-Уилка; среднее значение и стандартное отклонение ($M \pm SD$); медиана и межквартильный интервал

(Ме [Q1 – Q3]); t-критерий Стьюдента; U-критерий Манна-Уитни; критерий χ^2 Пирсона; формат – группа риска × бинарный признак «да/нет»; отношение шансов с 95 % доверительным интервалом, рассчитанное методом логистической регрессии. Все проверки – двусторонние; статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Использованные сведения соответствуют первичной медицинской документации и критериям включения протокола; обработка данных выполнена в соответствии с дизайном ретроспективного многоцентрового неинтервенционного исследования и рекомендациями STROBE.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Сравнительный морфологический анализ сперматогенеза и его микроокружения, тканевого иммунного компонента, а также количественно-пространственных характеристик семиномы позволил подтвердить значение эмбрионального фактора в развитии герминальной неоплазии. Существенно, что автор трактует изменения не изолированно, а в контексте реактивных и адаптационных механизмов, сопровождающих прогрессирование опухоли.

Автором впервые показана связь увеличения экспрессии NF- κ B в иммунных и атипичных клетках семиномы с интенсивностью митотического деления, усилением воспалительной реакции и ангиогенезом, а также ремоделированием экстрацеллюлярного матрикса. В нормальном яичке иммуномечение на NF- κ B наблюдается преимущественно в sustentоцитах и в меньшей степени – в сперматогенных клетках и интерстициальных эндокриноцитах, что подчёркивает различие регуляторных контуров в норме и при опухолевой трансформации. В перитуморальной зоне семиномы выявлено увеличение количества CD3+, CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, прямо-пропорциональное pT-стадии при отсутствии количественных изменений CD19+ В-лимфоцитов. При этом плотность лимфоцитарного инфильтрата в семиноме не имеет статистически значимых различий, хотя численность всех субпопуляций существенно выше, чем в нормальном яичке. Доля Treg FOXP3-лимфоцитов была мизерной, что, по-видимому, влияет на благоприятный прогноз.

Значимый раздел посвящён макрофагальному звену. Показано, что элементы тканевого иммунного микроокружения поддерживают фенотипическую пластичность

макрофагов. Ко-экспрессия CD163 с IL-10 и взаимодействие данного фенотипа опухоль-ассоциированных макрофагов с атипичными клетками, продуцирующими IL-10, указывают на их лидирующую роль в иммуносупрессивных каскадах, направленных на модуляцию воспалительной реакции, приводящей к опухолевой прогрессии. Проангиогенная роль CD163+ ОАМ подтверждена при оценке распределения CD31+ кровеносных сосудов. При этом маркировка на CD163 практически отсутствовала в перитуморальной зоне и интерстициальной ткани нормального яичка. Количество CD68 макрофагов в семиноме не изменяется в зависимости от стадии. В перитуморальной зоне их численность сопоставима с нормальным яичком, но снижается на pT2-стадии.

Впервые выявлено увеличение доли TGF- β + иммунных клеток опухолевого микроокружения, прямо-пропорциональное стадии. В совокупности с данными распределения MMP-3 это свидетельствует об участии местной воспалительной реакции и моделирования экстрацеллюлярного матрикса в опухолевой прогрессии.

Самостоятельную новизну имеют результаты исследования тучных клеток. Установлено, что количество Tryptase-, Chymase- и CPA3-позитивных тучных клеток снижается обратно пропорционально pT-стадии неметастатической семиномы. Это может рассматриваться как один из механизмов уклонения опухоли от дополнительного проопухолевого воздействия тучных клеток. Несмотря на преимущественно периваскулярное (Tryptase+CD31) расположение тучных клеток, их мизерное количество ограничивает реализацию проангиогенных свойств. Показано, что в норме в интерстициальной ткани яичка тучные клетки представлены в большом количестве. Впервые продемонстрировано, что их численность резко возрастает в перитуморальной зоне семиномы на pT1-стадии, что указывает на мобилизацию эффекторного звена локального иммунитета, обеспечивающего ограничение распространения опухоли; на pT2-стадии отмечается феномен стремительного снижения их доли.

Наиболее клинически значимый раздел результатов связан с риском рецидива. Автором впервые установлено, что повышение предоперационного уровня β -ХГЧ, инвазия в белочную оболочку и некроз опухоли совместно с параметрами моделиEAU 2023 (размер/RTI/LVI) могут рассматриваться как стратификационные факторы риска развития рецидива при неметастатической семиноме. Дополнительно, на основании

количественной характеристики CD163 макрофагов выявлена вероятность возникновения рецидива нематастатической семиномы, что позволяет использовать данный показатель в качестве прогностического маркера (AUC = 0,64).

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Значимость диссертационной работы В.И. Щекина определяется тем, что автор рассматривает семиному как следствие нарушений эмбрионального развития яичка и сохранение эмбриональных антигенов.

Теоретическая значимость работы обусловлена тем, что получены количественно-пространственные характеристики иммунного и стромального компонентов микроокружения в зависимости от pT-стадии. Лимфоидный инфильтрат (CD3, CD4, CD8 и CD19), макрофаги (CD68, CD163) и тучные клетки (Tryptase, Chymase, CPA3) рассмотрены во взаимосвязи с нормальными и атипичными сперматогенными клетками (CD117, PLAP, OCT3/4) на фоне усиления ангиогенеза. В совокупности это уточняет клеточные механизмы прогрессии нематастатической семиномы и создаёт основу для клинической интерпретации ряда признаков как прогностически значимых.

Отдельно подчеркну, что выявленные факторы, ассоциированные с риском возникновения рецидива (β -ХГЧ, инвазия в белочную оболочку и некроз опухоли) представляют практический интерес.

Таким образом, в диссертационном исследовании В.И. Щекиным решена актуальная научная задача: выявлены морфологические изменения элементов опухолевого микроокружения, их взаимодействие с атипичными герминогенными клетками нематастатической 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.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация на тему «Взаимодействие элементов микроокружения и опухолевых клеток в нематастатической семиноме; прогностическое значение» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук соответствует шифрам

научных специальностей 1.5.23. Биология развития, эмбриология и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия. Направления исследований диссертационной работы соответствуют пунктам: 2 и 3 паспорта научной специальности 1.5.23. «Биология развития, эмбриология» и пункту 2 паспорта научной специальности 3.1.6. «Онкология, лучевая терапия»

Полнота освещения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах Перечня ВАК Минобрнауки России и индексируемых в международных базах данных

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.

Оценка содержания работы, ее завершенности в целом

Диссертационная работа представляет собой рукопись на русском языке объемом 206 страниц машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы описания материала и методов, главы, посвященной результатам собственного исследования, обсуждения результатов исследования и заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 62 рисунками. Список цитируемой литературы включает 146 источников, из которых 12 отечественных, 134 – зарубежных.

Во введении автор обозначает актуальность исследования и степень разработанности проблемы, формулирует цель и задачи, отражает новизну и значимость работы, приводит положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен обзор литературы о роли лабораторных и морфологических факторов в прогнозировании семиномы. Отдельно выделены потенциальные прогностические маркеры. Заключительная часть главы логично

подводит к необходимости более детального исследования иммунного микроокружения семиномы как источника прогностических признаков и потенциальных терапевтических мишеней.

Во второй главе изложены материалы и методы с подробным описанием используемых подходов. Отдельного внимания заслуживает использование мультиплексного иммуногистохимического исследования с флюоресцентной микроскопией, позволяющего проводить пространственный анализ микроокружения, оценивать взаимодействие клеток различного генеза и внутриклеточные сигналы при нормальном сперматогенезе, в перитуморальной зоне и на ранних стадиях герминальной неоплазии – семиномы.

В главе собственных результатов автор последовательно связывает данные об эмбриональном развитии яичка и пубертатном периоде онтогенеза (манифестация сперматогенеза) с нарушением дифференцировки сперматогенных клеток и формированием предпосылок герминогенной неоплазии *in situ*. При анализе неметастатической семиномы pT1- и pT2-стадий описаны закономерности микроокружения, отражающие особенности локального иммунного статуса органа.

В диссертации охарактеризованы интратестикулярные регуляторы в сравнении с нормальным яичком, перитуморальной зоной и семиномой: жизненный цикл сперматогенных клеток (Ki-67, NF-κB; TUNEL-метод), степень васкуляризации (CD34), компоненты гемато-тестикулярного барьера (CD34, α-SMA), динамика субпопуляций лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, FOXP3 Treg, CD19). В части, посвящённой макрофагам, показана пластичность с увеличением CD163 OAM в семиноме pT2-стадии по сравнению с pT1 и пространственная зависимость со-локализации CD163⁺IL-10⁺ и TGF-β⁺. Для тучных клеток (Tryptase, Chymase, CPA3) отмечено обратно-пропорциональное снижение количества маркёров при семиноме.

В диссертации проведен анализ категориальных клинико-морфологических параметров в контексте групп риска рецидива, выявлены статистически значимые различия по нескольким ключевым показателям. В частности, морфологические характеристики опухолей продемонстрировали значительную ассоциацию с уровнем риска рецидива. Так, инвазию в белочную оболочку яичка наблюдали у 36,4 % пациентов низкого риска, у 73,0 % – в промежуточной группе и у 92,3 % – в группе

высокого риска ($\chi^2 = 23,63$; $p < 0,001$). Это подтверждает, что инвазия в белочную оболочку является важным прогностическим маркером для более высоких рисков рецидива.

Некроз опухоли также оказался более характерен для пациентов с высоким риском рецидива (46,2 %), в то время как в группах низкого и промежуточного риска он встречался с частотой 20,5 % и 19,2 % соответственно ($\chi^2 = 6,58$; $p = 0,038$), что подчеркивает его связь с более агрессивными формами опухоли.

Уровень бета-хорионического гонадотропина (β -ХГЧ) значительно различался между группами, что указывает на его значимость как прогностического маркера: низкий риск – 4,5 %, промежуточный – 23,1 %, высокий – 46,2 % ($\chi^2 = 17,26$; $p < 0,001$). Это подчеркивает, что β -ХГЧ может служить важным индикатором для оценки уровня риска рецидива.

При проведении морфологического исследования, автором было выявлено прямо пропорциональное увеличение CD163 опухоль-ассоциированных макрофагов в семиноме pT2-стадии по сравнению с pT1. Согласно результатам ROC-анализа прогностической ценности количества CD163 опухоль-ассоциированных макрофагов в отношении вероятности возникновения рецидива семиномы площадь под кривой (AUC) составила 0,64 (95 % ДИ: 0,44 – 0,84), что соответствует умеренной прогностической ценности показателя в отношении риска рецидива семиномы.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автор сопоставляет собственные данные с имеющимися источниками по заявленной проблеме. Наиболее содержательной представляется рубрика «Эмбриональный фактор в развитии герминальной неоплазии», где обсуждаются этапы нормального и патологического сперматогенеза – от закладки первичных половых клеток в эпибласте до морфологических предпосылок неоплазии – с анализом влияния факторов (OCT3/4, PLAP, NANOG, SOX2 и др.). В других рубриках обсуждения представлены интерпретации роли NF- κ B, CD3, CD4, CD8, FOXP3 Treg, CD19, CD68, CD163, IL-10, TGF- β , Tryptase, Chymase и CPA3.

В заключении автор корректно подводит итоги и подчёркивает междисциплинарный характер проблемы, находящейся на стыке онкологии и биологии развития.

Таким образом, диссертационная работа Щекина Владимира Ивановича производит целостное впечатление: материал изложен последовательно, методология обоснована, выводы соответствуют поставленной цели и задачам.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат соответствует рукописи диссертации. В нём отражены ключевые результаты исследования и основные итоги статистического анализа, подтверждающие положения, выносимые на защиту.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертация В.И. Щекина не вызвала принципиальных замечаний.

В ходе изучения диссертационной работы возник следующий вопрос:

1) Уточните, как Вы клинически интерпретируете умеренную прогностическую ценность CD163 (AUC = 0,64): при каких клинических сценариях этот показатель может изменить решение между активным наблюдением и адьювантной терапией?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Щекина Владимира Ивановича на тему: «Взаимодействие элементов микроокружения и опухолевых клеток в нематастатической семиноме; прогностическое значение» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи современной медицинской науки – выявлены наиболее важные количественные изменения элементов микроокружения и особенности их взаимодействия с неопластическими клетками в нематастатической семиноме, имеющей существенное значение для 1.5.23. Биология развития, эмбриология (медицинской науки) и 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (медицинской науки).

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов представленная диссертация полностью 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 кандидата медицинских наук по научным специальностям: 1.5.23. Биология развития, эмбриология; 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Официальный оппонент:

Заместитель директора по инновационной деятельности ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, доктор медицинских наук (3.1.13. Урология и андрология), профессор, академик РАН



В.Б. Матвеев
подпись

Подпись академика РАН В.Б. Матвеева заверяю

Ученый секретарь
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, к.м.н.



И.Ю. Кубасова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России).

115522, г. Москва, ул. Каширское шоссе, д. 24.

тел.: +7 (499) 444-24-24.

сайт: <https://www.ronc.ru/>

E-mail: info@ronc.ru

Дата « 12 » 01 2026 г.