

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента Раскина Григория Александровича на диссертацию Наумова Сергея Сергеевича на тему: «Экспрессия иммунорегуляторных белков PD-L1, CTLA-4, LAG3 и параметры опухолевого микроокружения при раке толстой кишки», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2. Патологическая анатомия

Актуальность избранной темы исследования

Рак толстой кишки (РТК) продолжает занимать лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости и смертности во всём мире. В последние годы вектор научных исследований смещается в сторону молекулярной онкологии и иммунобиологии опухолей, что отражает глобальный переход к персонализированной медицине. Особое внимание уделяется изучению механизмов опухолевой прогрессии, взаимодействия опухоли с иммунной системой и формирования иммунного уклонения, играющего ключевую роль в резистентности к современным видам терапии, в том числе к ингибиторам иммунных контрольных точек.

Среди иммунорегуляторных мишеней, имеющих клиническое значение, особый интерес представляют белки PD-L1, CTLA-4 и LAG-3, экспрессия которых ассоциирована с иммуносупрессивным фенотипом опухоли, модуляцией Т-клеточного ответа и потенцированием механизмов иммуноуклонения. Одним из ключевых молекулярных детерминант, влияющих на клиническое течение и чувствительность к иммунотерапии РТК, является статус системы репарации неспаренных оснований (Mismatch Repair, MMR). У пациентов с дефицитом репарации (dMMR) выявляется высокая мутационная нагрузка и, как следствие, выраженный противоопухолевый иммунный ответ, определяющий их высокую чувствительность к терапии ингибиторами иммунных контрольных точек. Напротив, опухоли с сохраненной функцией репарации (pMMR) демонстрируют «иммунологически холодный» фенотип с низкой инфильтрацией иммунных клеток и неблагоприятным прогнозом.

Наряду с молекулярными характеристиками, важнейшую роль в прогнозировании течения РТК играют морфологические параметры: локализация

опухоли, стадия по системе pTNM, степень дифференцировки, наличие сосудистой и периневральной инвазии, а также выраженность опухолевого почкования (tumor budding) на инвазивном фронте. В условиях нарастающей молекулярной гетерогенности РТК морфологические критерии приобретают особое значение в сочетании с молекулярно-генетическим профилем, прежде всего с учётом MMR-статуса.

Современные представления подчёркивают важность иммунного микроокружения как интегрального фактора, определяющего не только биологические свойства опухоли, но и её клиническое поведение. Баланс между цитотоксическими CD8⁺ Т-лимфоцитами, регуляторными Т-клетками и CD163⁺ макрофагами, обладающими проопухолевыми свойствами, имеет критическое значение для формирования ответа на таргетную и иммунотерапию.

В этой связи актуальным и научно обоснованным является проведение комплексного исследования, направленного на оценку экспрессии PD-L1, CTLA-4, LAG-3 и фенотипа иммунного микроокружения в зависимости от MMR-статуса опухоли. Установление взаимосвязей между молекулярными, иммунными и морфологическими признаками опухоли позволит уточнить прогноз заболевания и определить возможные биомаркеры, релевантные для стратификации пациентов и оптимизации терапевтических решений.

Таким образом, выбранная тема диссертационного исследования полностью соответствует современным научным приоритетам и обладает высокой клинической значимостью, что обосновывает её несомненную актуальность.

Научная новизна исследования, результатов и выводов диссертации

Диссертационная работа С.С. Наумова отличается значительной научной новизной, заключающейся в получении оригинальных данных, расширяющих современные представления о морфологических и иммунологических особенностях рака толстой кишки с учётом MMR-статуса опухоли.

Впервые установлено, что феномен опухолевого почкования (tumor budding) при раке толстой кишки достоверно ассоциирован с наличием лимфоваскулярной инвазии и более высокой частотой регионарного метастазирования, не демонстрируя при этом связи с MMR-статусом опухоли.

Впервые показано, что экспрессия иммунных контрольных точек PD-L1, CTLA-4 и LAG-3 в клетках опухолевого микроокружения значительно выше на инвазивном фронте роста при dMMR-аденокарциномах по сравнению с опухолями с pMMR-фенотипом. Это свидетельствует о более выраженной иммунной активности и вовлечённости контрольных точек в формирование иммунного ответа у пациентов с микросателлитно нестабильным РТК.

Новым является выявление достоверного преобладания CD163-позитивных макрофагов как в центральной части опухоли, так и на инвазивном крае карцином с дефицитом белков системы репарации неспаренных оснований (dMMR), по сравнению с опухолями, обладающими профицитным MMR-фенотипом. Этот результат подчёркивает различия в макрофагальной инфильтрации между подтипами опухолей и потенциальную значимость M2-поляризованных макрофагов в патогенезе dMMR-карцином толстой кишки.

Впервые продемонстрированы различия в характере лимфоидной инфильтрации: в опухолях с dMMR-статусом выявлена чёткая взаимосвязь между экспрессией белков PD-L1, CTLA-4, LAG-3 и плотностью CD3+ Т-лимфоцитов, тогда как в опухолях с pMMR-фенотипом установлена аналогичная связь, но с CD8+-цитотоксическими Т-клетками.

Впервые установлено статистически значимое повышение соотношения CD3+/CD8+ опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов в dMMR-ассоциированных карциномах толстой кишки, что свидетельствует о принципиальных различиях в составе иммунного микроокружения между молекулярными подтипами рака толстой кишки.

Таким образом, полученные в диссертации результаты обладают высокой степенью новизны и расширяют современные представления об иммуноморфологических особенностях РТК, формируя основу для дальнейших исследований в области онкоиммунологии и персонализированной терапии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций

Научные положения, выводы и практические рекомендации, представленные в диссертационной работе С.С. Наумова, обоснованы на анализе достаточного по объёму, качественно охарактеризованного клинического материала. Исследование

выполнено с применением современных морфологических и иммуногистохимических методов.

Методический подход автора соответствует актуальным требованиям к проведению морфолого-иммунологического анализа опухолевого материала. Применённые методы полностью соответствуют поставленным задачам и научной цели исследования. Статистическая обработка проведена с использованием современного программного обеспечения, а выбор методов анализа и критериев достоверности адекватен типу и структуре полученных данных, что позволяет обоснованно интерпретировать установленные закономерности.

Полученные результаты представлены в убедительной форме, сопровождаются информативными таблицами, графиками и микрофотографиями. Все поставленные задачи логично реализованы, выводы последовательно сформулированы, чётко соответствуют данным, полученным в ходе исследования.

Основные положения и результаты диссертации неоднократно докладывались и обсуждались на профильных научных форумах и конференциях российского и международного уровня.

Значимость работы для науки и практики

Положения и выводы, сформулированные С.С. Наумовым на основе проведённого исследования, вносят существенный вклад в развитие представлений о патоморфологических и иммунологических аспектах прогрессии РТК. Работа дополняет существующие данные о значении таких морфологических параметров, как опухолевое почкование и лимфоваскулярная инвазия, в прогнозировании течения заболевания и демонстрирует их взаимосвязь с регионарным и отдалённым метастазированием.

Особую научную ценность представляет комплексный мультиплексный анализ опухолевого микроокружения с учётом экспрессии ключевых иммунных контрольных белков (PD-L1, CTLA-4, LAG-3) в зависимости от MMR-статуса опухоли. Полученные результаты расширяют понимание иммунной гетерогенности РТК и указывают на возможность дифференцированной оценки иммунного фенотипа опухолей, что имеет важное значение для прогнозирования эффективности иммунотерапии.

Практическая значимость работы заключается в возможности использования полученных данных при проведении рутинного морфологического и иммуногистохимического исследования опухоли, включая оценку иммунного ландшафта и MMR-статуса, с целью уточнения прогноза заболевания. Представляет интерес разработанная автором математическая модель, предназначенная для определения вероятности развития отдалённых метастазов у пациентов с РТК. Модель основана на объективных морфологических и иммунологических параметрах, что создаёт предпосылки для её последующей адаптации в клиническую практику.

Таким образом, диссертационная работа обладает высокой научной и прикладной значимостью, результаты исследования имеют потенциал для внедрения в онкоморфологическую диагностику и прогностическую стратификацию больных раком толстой кишки.

Личный вклад автора в получение результатов диссертационного исследования

Соискатель принимал непосредственное участие в разработке концепции исследования, включая формулирование научной гипотезы, цели и задач работы. Соискателем была разработана методология исследования, включающая дизайн эксперимента и протоколы патоморфологического и иммуногистохимического анализа. В ходе выполнения работы диссертантом осуществлялся сбор и систематизация клинического материала, отбор и подготовка морфологических образцов. Все патоморфологические и иммуногистохимические исследования проведены автором самостоятельно.

Автором была выполнена статистическая обработка полученных данных с использованием современных методов биостатистики, произведен анализ и научная интерпретация результатов. На основании проведенной работы Наумовым С.С. были сформулированы основные положения, выносимые на защиту, и выводы диссертационного исследования.

Соискатель лично представлял результаты исследования на научных конференциях. Автором подготовлены и опубликованы научные работы, отражающие основное содержание диссертационного исследования, в рецензируемых научных изданиях.

Оценка содержания и структуры диссертационной работы

Диссертационная работа Наумова Сергея Сергеевича изложена на 177 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, главу о материалах и методах исследования, результаты с их обсуждением, заключение, выводы и практические рекомендации. Работа иллюстрирована 36 таблицами и 43 рисунками, представленные материалы являются наглядными и убедительно подтверждают результаты исследования. Список литературы содержит 244 источника, из них 241 — зарубежные, что свидетельствует о глубокой проработке вопроса и ориентации автора на актуальные мировые исследования.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и пять задач исследования, подчеркнуты научная новизна и практическая значимость работы. Поставленные задачи логично вытекают из цели и охватывают весь спектр проведённых исследований.

Глава «Обзор литературы» демонстрирует хорошую осведомлённость автора в современных представлениях об иммуноморфологии рака толстой кишки. Особое внимание уделено характеристике молекулярных подтипов опухоли, в частности различиям между dMMR- и pMMR-формами, а также иммунным контрольным точкам (PD-L1, CTLA-4, LAG-3) как предикторам ответа на иммунотерапию.

В разделе «Материалы и методы» подробно охарактеризован исследуемый материал — операционные образцы от 80 пациентов с подтверждённым раком толстой кишки. Представлены критерии оценки ключевых морфологических признаков (степень дифференцировки, инвазия, опухолевое почкование и др.). Особо следует отметить использование автором модифицированной TSA-иммуногистохимии (Tyramide Signal Amplification), что позволило провести мультиплексное окрашивание ткани и детально охарактеризовать пространственные взаимоотношения между клеточными популяциями (CD3+, CD8+, CD163+), а также уровни экспрессии белков PD-L1, CTLA-4, LAG-3 в различных зонах опухоли — в центре и на инвазивном фронте. Применение данной методики значительно повысило разрешающую способность и чувствительность анализа, позволив фенотипировать элементы иммунного инфильтрата *in situ* и провести объективное сравнение между dMMR- и pMMR-опухолями.

Раздел «Результаты и обсуждение» содержит четыре логически выстроенных подраздела, в которых детально рассмотрены взаимосвязи между морфологическими, иммуногистохимическими и клинико-прогностическими характеристиками опухолей. Особое внимание уделено оценке роли опухолевого почкования, выраженности инфильтрации различными субпопуляциями иммунных клеток, а также разработке математической модели для оценки вероятности отдалённого метастазирования, что придаёт исследованию прикладной характер.

В главе «Заключение» автор интерпретирует полученные данные в контексте актуальной научной литературы, сопоставляя и обсуждая результаты собственного исследования с релевантными публикациями.

Выводы диссертационной работы обоснованы, отражают полученные результаты и подтверждают их научную состоятельность. Сформулированные автором практические рекомендации опираются на объективные морфологические и иммунологические показатели и могут быть использованы в патоморфологической практике при прогнозировании течения заболевания.

По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 4 журнальных статьи, в том числе 4 статьи в научных журналах и изданиях, включённых в перечень рецензируемых научных изданий, из них 4 статьи в журнале категории K1, том числе 4 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science.

Автореферат диссертационной работы полностью отражает её содержание, соответствует основным положениям диссертации, структуре и полученным результатам.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

Заключение. Диссертационная работа Наумова Сергея Сергеевича на тему: «Экспрессия иммунорегуляторных белков PD-L1, CTLA-4, LAG3 и параметры опухолевого микроокружения при раке толстой кишки», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2 – патологическая анатомия, является самостоятельным, завершённым научно-квалификационным исследованием, в рамках которого решена актуальная научно-практическая задача: комплексная морфологическая и иммуногистохимическая

характеристика опухолевого микроокружения рака толстой кишки в зависимости от MMR-статуса опухоли с целью выявления прогностически значимых признаков, ассоциированных с риском метастазирования, и обоснования возможности использования иммунных маркеров для персонализированного подхода к терапии. Полученные результаты имеют важное значение для развития патологической анатомии, иммуноморфологии опухолей и клинической онкологии.

Диссертационная работа отличается высоким научным уровнем, актуальностью, новизной и практической значимостью, что полностью соответствует требованиям пункта 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 №842 (в редакции от 25.01.2024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а её автор, Наумов Сергей Сергеевич, заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2. Патологическая анатомия.

Официальный оппонент:
Раскин Григорий Александрович,
доктор медицинских наук, доцент
заместитель главного врача
по лабораторной медицине –
врач-патологоанатом



Г.А. Раскин

«14» 05 2025 г.

Подпись официального оппонента доктора медицинских наук, доцента Раскина Григория Александровича заверяю:

Генеральный директор

М.М. Архипкина



Общество с ограниченной ответственностью «Лечебно-диагностический центр Международного института биологических систем имени Сергея Березина» 194354 г. Санкт-Петербург, ул. Есенина, дом 2, корпус 3
Телефон: +7 (812) 244-00-24, E-mail: info@ldc.ru, Сайт: <https://ldc.ru>