

ВІДГУК

Офіційного опонента – доктора медичних наук, професора, завідувач кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики Національний медичний університет імені О. О. Богомольця Курченко Андрія Ігоровича на дисертаційну роботу Айкяна Артема Завеновича «Роль M1 і M2 фенотипів макрофагів у імунопатогенезі аденокарциноми молочної залози при наявності або відсутності метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах», подану у спеціалізовану вчену раду Д 64.051.33 Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

Актуальність обраної теми дисертації. Аденокарцинома молочної залози відноситься до тяжких і небезпечних для життя онкологічних патологій, і займає перше місце в структурі онкологічної захворюваності жінок у світі.

Молекулярно-біологічні типи РМЗ мають різні епідеміологічні фактори ризику, різні природні історії і дають різну відповідь на системну і місцеву терапію.

Макрофаг є ключовою клітиною, яка відповідає на метаболічні сигнали мікрооточення, на якій замикаються/переключаються метаболічні сигнали і імунна відповідь, що робить її роль вкрай важливою для кожного етапу онкогенезу.

ПАМ M2-типу домінують у пухлинах і продукують молекули, стимулюючи ріст пухлини, а зміна M2-типу на M1 може уповільнювати або припиняти цей ріст. При РМЗ виявлено змішаний цитокінетичний профіль M1/M2, що говорить про наявність у ній і функції M1, і M2 ПАМ. Імовірно, що існує спектр ПАМ, фенотип і функція яких залежить від типу пухлини та розташування всередині пухлини.

Перспективними стратегіями терапії раку, орієнтованими на ПАМ, є: пригнічення залучення макрофагів, пригнічення виживання ПАМ, перетворення туморогенного M2 в протипухлинний M1 функціональний тип. Але широкі кількісні варіації ПАМ підкреслюють необхідність кращого розуміння гетерогенності між пацієнтами.

Але, на сьогоднішній день відсутній систематичний підхід дослідження який би міг співвіднести молекулярно-біологічні підтипи PM3 з проліферативними морфологічними особливостями пухлини, і представництвом різних ПАМ. Тому важливим завданням є дослідження співвідношення субпопуляцій Mф у мікросередовищі пухлин та їх метастазів при різних видах PM3 для встановлення зв'язків з метастазуванням з метою прогнозу і вибору лікування, у відповідності до експресії ER, PR та Ki67. Тому дисертаційна робота Айкяна Артема Завеновича має високу актуальність.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи Української медичної стоматологічної академії «Комплексне дослідження патогенетичної ролі субпопуляцій M1 та M2 макрофагів в розвитку хронічного обструктивного захворювання легень для розробки та обґрунтування персоналізованої терапії з врахуванням маси тіла» (№ державної реєстрації 0117U005252).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Використання сучасних методів дослідження, достатня кількість обстежених хворих, поглиблений аналіз, статистична обробка дозволили Айкяну А.З. у дисертаційній роботі обґрунтувати і узагальнити наукові положення, висновки та практичні рекомендації.

Міра обґрунтованості та достовірності наукових положень, результатів і висновків дисертації забезпечена коректним використанням загальнонаукових та науково-практичних методів дослідження, теоретико-методологічних підходів, які ґрунтувались на засадах консенсусу з медичної біоетики та принципах доказової медицини. Запропоновані автором практичні рекомендації

ґрунтуються на об'єктивних даних результатів досліджень і відображають доцільність їх подальшого застосування у медичній, науковій, практичній та навчально-освітній сфері.

Структура дисертаційної роботи логічна, зміст розділів відповідає меті та завданням, а також відображає суть та предмет дослідження. Представлені в роботі наукові положення, висновки і рекомендації ґрунтуються на фактичних матеріалах дисертаційного дослідження. Проведений аналіз та узагальнення даних при оцінці отриманих результатів власних досліджень логічні та обґрунтовані, висновки відповідають завданням, які поставив дисертант.

3. Наукова новизна отриманих результатів та достовірність положень, сформульованих у дисертації. Достовірність основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих в дисертаційній роботі Айкяна А.З. ґрунтується на: достатній кількості обстежених хворих; достатньому обсязі виконаних клініко-імунологічних досліджень; використанні адекватних і загальновизнаних методів дослідження. Цифрові результати досліджень оброблено у відповідності із правилами альтернативної і рядової варіаційної статистики.

Викладене вище засвідчує те, що сформульовані у дисертаційній роботі Айкяна А.З. основні наукові положення і висновки є достовірними, а практичні рекомендації – обґрунтованими.

Наукова новизна полягає в тому, що дисертантом проведено комплексну оцінку зв'язків молекулярно-біологічного типу РМЗ, його окремих патогістологічних особливостей із кількісними показниками CD68+ і CD163+ ПАМ. Вперше продемонстровано що різні кількісні зміни CD68+ і CD163+ ПАМ первинного вогнища РМЗ супроводжують пухлини при їх метастазах у регіональні лімфовузли, в залежності від молекулярно-біологічного типу РМЗ, для чого вперше використано підхід досліджень у стратифіковано рандомізованих та малих вузькоспеціалізованих групах дослідження.

Підтверджено типову локалізацію ПАМ, яка взаємопов'язана з патогістологією зразків: типова локалізація CD68+ ПАМ – строма пухлини,

деякі пухлинні кластери, але не всі, і осередки некрозу. Співлокалізація CD163+ ПАМ найбільш чітка – у стромі, у інших відділах – на нижчих рівнях.

Підтверджено гетерологічність первинного вогнища РМЗ і метастазів у лімфатичних вузлах та відміни у кількісних представництвах CD68+ і CD163+ ПАМ з відсутністю достовірних кореляцій між кількостями ПАМ первинного вогнища і метастазу для більшості типів РМЗ.

4. Повнота викладу основних результатів дисертації в опублікованих працях. Результати досліджень, основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації, що висвітлюють основні аспекти кандидатської дисертації Айкяна А.З. оприлюднено і обговорено на науково-практичних конференціях. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 5 праць: 4- у вітчизняних наукових фахових виданнях, 1 - стаття у журналі, включений до наукометричної баз даних Scopus та 2 тези доповідей на міжнародних наукових конференціях.

Вказане вище, дозволяє визначити, що опубліковані праці автора повною мірою розкривають основні наукові положення, висновки і рекомендації дисертаційної роботи.

5. Структура, зміст і завершеність дисертаційної роботи. Дисертаційна робота Айкяна А. З. викладена українською мовою на 177 сторінках комп'ютерного тексту, з них 137 сторінок – основного тексту. Робота містить анотації, вступ, зміст, перелік скорочень, аналітичний огляд літератури, опис матеріалів і методів досліджень, розділ з 6 підрозділів результатів власних досліджень, розділ аналізу та узагальнення, висновки, список використаних джерел літератури, додатки. Дисертаційна робота ілюстрована 34 рисунками і 15 таблицями.

У вступі лаконічно і переконливо обґрунтовано актуальність для медичної галузі вирішення задачі систематичного підходу дослідження співвідношення молекулярно-біологічного підтипа РМЗ з проліферативними морфологічними особливостями пухлини, і представництвом різних ПАМ.

Висвітлено зв'язок роботи з науковими програмами, сформульовано мету, визначено завдання дослідження для її досягнення, окреслено об'єкт та предмет дослідження, розкрито наукову новизну, теоретичне та практичне значення отриманих результатів, наведено дані, щодо апробації і опублікування останніх, а також відомості про обсяг та структуру дисертації.

Розділ 1 є огляд літератури і складається з п'яти підрозділів, які характеризують сучасний стан вивчення епідеміології та класифікації раку молочної залози. Автором детально описані патогенез раку молочної залози. Детально розглянуто **роль макрофагів в патогенезі раку молочної залози**. Окремо проаналізовані особливості маркерів M1/M2 макрофагів асоційованих з пухлиною. В цілому, огляд літератури засвідчує добру обізнаність автора з переліченими проблемами і справляє позитивне враження. Перелік використаних літературних джерел налічує всього 263 найменування, із яких 15 викладено кирилицею, 248 – латиницею.

Розділ 2. «Матеріали і методи дослідження». У даному розділі представлена загальна характеристика обстежених пацієнтів, основні лабораторні, імунологічні та статистичні методи дослідження. Визначено клінічні критерії включення в дослідження хворих на рак молочної залози, розподіл їх за групами. Було виділено 30 пацієнток з верифікованим діагнозом РМЗ, які були розподілені на 2 групи, по 5 підгруп в кожній. Методи дослідження, які використовував автор в своїй дисертаційній роботі охоплюють клінічні патогістологічні, імуногістохімічні та статистичні. Наведені основні лабораторні методи, якими дисертант користувався: 1) верифікація злоякісного процесу за даними патоморфологічного дослідження; 2) патоморфологічне встановлення G-ступеню та гістологічних варіантів пухлин; 3) імуногістохімічне дослідження експресії ER, PR, HER2, Ki-67; 4) Імуногістохімічне визначення та оцінка CD68+ та CD163+ ПАМ. Повнота викладення автором методів досліджень є цілком достатньою для оцінки їх сучасності, обґрунтованості вибору цих методів з точки зору виконання

поставлених завдань, забезпечення якості проведення експериментів, можливості їх відтворення та статистичної обробки отриманих результатів.

Розділ 3. «Результати дослідження». У цей розділ входить шість підрозділів, які нам дають можливість детальніше вивчити зв'язки молекулярно-біологічного типу РМЗ, його окремих патогістологічних особливостей із кількісними показниками CD68+ і CD163+ ПАМ. В першому підрозділі визначено **демографічні та клініко-лабораторні характеристики учасниць дослідження за віком, G-ступенем і TNM стадією пухлини, гістологічних варіантів пухлин та за молекулярно-біологічним типом пухлини.** У другому підрозділі представлені результати порівняння кількісних показників CD68+, CD163+ клітин **у первинних РМЗ між першою N0 групою і другою N1 групою:** показав збільшення кількісних показників CD68+ ПАМ за умов метастазів. Кореляційний аналіз повної вибірки показав прямі достовірні кореляційні взаємозв'язки між кількістю CD68+ клітин і Ki67, і зворотні кореляційні зв'язки між кількостями CD68+, CD163+ клітин та ER/PR. Оригінальним матеріалом представленим в третьому підрозділі є **якісна та кількісна оцінка CD68⁺ та CD163⁺ клітин первинного вогнища люмінальних типів РМЗ з метастазами та без метастазів.** При цьому при люмінальному А РМЗ достовірністю характеризувалося співвідношення CD68+/CD163+ ПАМ на користь перших, не залежно від метастазування, і, аналогічно, в метастазах лімфатичних вузлів. При люмінальному В HER2– (негативному) РМЗ в метастазуючих зразках кількісні показники CD68+ та CD163+ ПАМ знижувалися, порівняно із зразками не метастазуючого РМЗ, а CD163+ ПАМ були представлені у лімфатичних метастазах на вищому рівні, порівняно з первинним вогнищем. При люмінальному В HER2+ РМЗ достовірність підтверджена лише для переваги CD68+ над CD163+ ПАМ в межах метастазів. В четвертому підрозділі дисертант вивчав **якісну та кількісну оцінку CD68+ та CD163+ клітин первинного вогнища й метастатичних уражень лімфовузлів при нелюмінальному HER2+ РМЗ і встановив** достовірне збільшення кількості CD68+ клітин у другій, N1, групі

та достовірне зменшення кількості CD68+ клітин у метастазах, порівняно з первинним РМЗ. Не підтверджено достовірності відмін кількостей CD163+ клітин, і кореляцій між первинним вогнищем і метастазами. В п'ятому підрозділі при якісній та кількісній оцінці CD68+ та CD163+ клітин первинного вогнища й метастатичних уражень лімфовузлів при потрійному негативному РМЗ визначено достовірне збільшення кількості CD68+ та CD163+ ПАМ в первинному РМЗ у другій N1 групі з метастазами, зменшення CD68+ клітин у метастазах в лімфатичних вузлах, порівняно з первинним вогнищем, та зворотнє кореляційне відношення помірної сили між CD163+ клітинами в первинних вогнищах і метастазах. В шостому підрозділі автор аналізував зв'язки рівнів інфільтрації первинної РМЗ CD68+ та CD163+ клітинами з післяопераційним прогнозом, після чого було визначено зворотний але статистично не достовірний зв'язок.

Розділ 4. В розділі «Аналіз та узагальнення отриманих результатів» дисертант узагальнив результати проведеного дослідження на рак молочної залози.

Основні положення дисертаційної роботи представлені десятима висновками, які відображають отримані автором результати, дають відповідь на поставлені в роботі питання і є науково обґрунтовані.

Опублікована анотація роботи повною мірою відповідає основним положенням, що викладені в тексті дисертації та не містить даних, які були б відсутні в дисертації. Аналізуючи текст дисертації, офіційний опонент підтверджує повне дотримання дисертанткою вимог академічної доброчесності.

Дисертаційна робота Айкяна Артема Завеновича містить посилання на згадані у тексті джерела інформації в разі використання ідей, розробок, тверджень, відомостей. Автором дотримано вимоги норм законодавства про авторське право; надано повну і достовірну інформацію про результати її наукової діяльності, а також використані методи досліджень.

У даній дисертації не виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації та інших порушень, які могли б поставити під сумнів самостійний характер виконаного дисертаційного дослідження.

Теоретичне та практичне значення одержаних результатів. Диференційований підхід до аналізу інфільтрації CD68+ та CD163+ ПАМ РМЗ залежить від молекулярно-біологічного типу пухлини, а також має індивідуальні і внутрішньопухлинні коливання, не завжди корелює з лімфатичним метастазуванням. Необхідно враховувати отримані відомості для відповідної екстраполяції результатів інших наукових досліджень.

Дискусійні положення та зауваження щодо змісту дисертації. Загалом позитивно оцінюючи дисертаційну роботу Айкяна Артема Завеновича, варто запропонувати дисертантці такі дискусійні питання:

1. Яке сучасне клініко-діагностичне значення має визначення у хворих кількісного складу субпопуляцій макрофагів M1 та M2 типу?
2. Яке значення має визначення біологічних маркерів CD68+ та CD163+ при імуногістохімічному дослідженні для прогнозу пухлинного метастазування?
3. Чому при люмінальному А типі аденокарциноми молочної залози у всіх дослідних групах переважали CD68+ ПАМ.

Дискусійний характер запитань стосується тільки трактування автором окремих результатів, але це не зменшує високої оцінки проведеного дослідження в цілому.

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Айкяна Артема Завеновича на тему «Роль M1 і M2 фенотипів макрофагів у імунопатогенезі аденокарциноми молочної залози при наявності або відсутності метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах», представлена до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.051.33 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки

України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук є самостійною завершеною науково-дослідною працею та містить наукові положення та науково обґрунтовані результати.

Дисертаційна робота Айкяна А.З. за актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, теоретичною та практичною цінністю відповідає вимогам п.11-13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567 (зі змінами) щодо кандидатських дисертацій, а її автор – Айкян А. З. заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія.

Офіційний опонент - доктор медичних наук, професор

завідувач кафедри клінічної імунології та

алергології з секцією медичної генетики

Національного медичного університету

імені О.О. Богомольця

Курченко Андрій Ігорович

