

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, доцента, професора кафедри променевої діагностики, терапії, радіаційної медицини та онкології Одеського національного медичного університету МОЗ України Бондаря Олександра Вадимовича на дисертаційну роботу Дудаша Андрія Петровича «Інфільтративний протоковий рак грудної залози: клініко-морфологічні та імуногістохімічні особливості різних молекулярних підтипів і прогнозування перебігу», подану в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 35.600.080 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина

Актуальність теми дисертації

Рак грудної залози протягом останніх десятиліть продовжує залишатися найпоширенішим злоякісним новоутворенням серед жіночого населення. Доводиться констатувати цю тенденцію у жінок репродуктивного віку. Злоякісна патологія залишається актуальною не тільки в масштабах окремої країни, але й для світової спільноти.

За даними ВООЗ, у 2020 році рак грудної залози був діагностований у 2,3 мільйона жінок, при тому у світі було зареєстровано 685 тис. випадків смерті від даної хвороби, незважаючи на вдосконалення підходів до діагностики та лікування. В Україні захворюваність на рак грудної залози займає перше місце серед усіх злоякісних пухлин, що виявляються у жінок.

Рак грудної залози сьогодні визначається як група захворювань з варіабельною морфологією, молекулярними особливостями, поведінкою та відповіддю на терапію. Окрім розробленої і запропонованої Perou SM (2000) молекулярно-генетичної класифікації РГЗ, в наш час проводяться дослідження, які дозволяли би точніше виділяти хворих як зі сприятливим, так і не сприятливим прогнозом перебігу захворювання.

З метою прогнозування раку грудної залози розроблені одногенні або мультигенні панелі: мультигенна сигнатура Oncotype™ DX, заснована на 21 гені, MammaPrint® - 70-генна сигнатура, також відома як «Амстердамська сигнатура». Ще однією панеллю є Роттердамська сигнатура на підставі 76 генів, яка включає функції інших сигнатур (Oncotype™ DX і MammaPrint®), і дозволяє прогнозувати ризик розвитку віддалених метастазів протягом 5 років

у хворих без ураження лімфатичних вузлів. Тим не менш, одним з важливих факторів, що лімітують широке застосування цих тестів, є висока ціна досліджень. Так, вартість одного аналізу в країнах Європи може варіювати від 1700 до 3800 Євро. В Україні на сьогоднішній день окремі лабораторії надають послуги досліджень з оцінкою ризику рецидиву (ціна понад 100 000 грн). Виходячи з дуже високої вартості комерційно доступних прогностичних генних тестів, в рутинній практиці вони не знайшли широкого використання у багатьох країнах світу.

Імуногістохімічні маркери, що є білковими молекулами, які в свою чергу є продуктами експресії генів і активно приймають участь у процесі канцерогенезу, можуть бути використані для оцінки прогностичних чинників, включаючи молекулярні підтипи, HER-2/neu, гормональні рецептори, маркери проліферації (Ki-67), лімфоваскулярної інвазії, запалення, ангіогенезу та інші.

Відмінності в експресії таких маркерів, як E-кадгерин, що є однією з найбільш значущих молекул клітинної адгезії в епітеліальних тканинах, гіперекспресія циклооксигенази-2 з активацією неоангіогенезу та підвищенням метастатичного потенціалу, щільність розподілу пухлино-інфільтруючих лімфоцитів зможуть дати відповідь про відмінності перебігу і прогнозу пухлин грудної залози, які порівнювані за поширеністю і гістологічною структурою.

Таким чином, встановлення взаємозв'язків між клінічними особливостями раку грудної залози, гетерогенністю будови інвазивного компонента, стромальної запальної реакції і показниками, що характеризують біологічні властивості пухлини, при різних молекулярних підтипах дадуть змогу визначити несприятливий перебіг захворювання і стануть основою до персоналізованого лікування для запобігання розвитку рецидивів.

Вважаю, що актуальність проведеного дисертаційного дослідження не викликає сумніву, дослідження є корисним і важливим.

Зв'язок теми дисертаційної роботи з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом наукових досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила

Галицького і є частиною науково–дослідної теми кафедри патологічної анатомії та судової медицини «Вивчення патоморфологічних особливостей захворювань щитоподібної залози, серцево-судинної, травної, сечовидільної та репродуктивної систем і перинатального періоду з метою удосконалення їх морфологічної діагностики» (№ державної реєстрації 0118U000100, термін виконання 2018-2022 роки), «Вивчення патогенетичних механізмів та патоморфологічних особливостей захворювань ендокринної, серцево-судинної, дихальної, нервової, травної, сечовидільної та репродуктивної систем з метою удосконалення їх морфологічної діагностики» (№ державної реєстрації 0123U201668, термін виконання 2023-2027 роки). Автором самостійно виконані дослідження інфільтративного протокового раку грудної залози із статистичною обробкою.

Тема дисертаційної роботи була затверджена на засіданні вченої ради медичного факультету №2 (протокол N3 від 20.11.2019) Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

У дисертації представлені фактичні дані та теоретичні узагальнення, які є власним науковим здобутком автора. Робота виконана на засадах доказової медицини.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій полягає у використанні достатнього об'єму матеріалу, що включає 193 спостереження хворих на інфільтративний протоковий рак грудної залози, котрі проходили спеціалізоване протипухлинне лікування на базі Комунального некомерційного підприємства Львівської Обласної Ради «Львівський онкологічний регіональний лікувально-діагностичний центр» у 2017 році. Формування вибірки відбувалося відповідно до завдань наукового дослідження. Сформульовані в дисертації нові положення, висновки і практичні рекомендації базуються на виділенні репрезентативних груп досліджень, морфологічному та електронно-мікроскопічному дослідженні гетерогенної будови інвазивного компонента, імуногістохімічному дослідженні E-кадгерину, COX-2, неоангіогенезу, лімфоїдної інфільтрації. Важливим з погляду об'єктивності і вірогідності є використання здобувачем

сучасних методик морфометричного аналізу. Зокрема наявність, локалізацію та інтенсивність експресії ключових діагностичних, прогностичних та прогнозних біомаркерів CD3, CD20 і CD56 - позитивних клітин (Т-, В- і NK клітин відповідно) у зрізах тканини інвазивного протокового раку грудної залози, виявлених за допомогою антитіл і систем детекції на основі хромогенних речовин, визначали за допомогою відкритої, потужної програмної платформи QuPath для аналізу біозображень. У роботі використано методи описової та аналітичної статистики. Для оцінки зв'язків між клініко-патологічними ознаками, імуногістохімічними маркерами використовували непараметричний аналіз з обчисленням коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (R). При визначенні залежності показників від діючих факторів використовувався мультифакторний регресійний аналіз, який проводився методом лінійної регресії.

Основні положення і висновки дисертації повністю викладені в 29 наукових працях, з яких 9 статей, з них 1 стаття в колективній монографії, виданій закордоном (Collective monograph Medical University of Lublin, Poland), 2 статті – у закордонних фахових наукових виданнях, що входять у наукометричну базу Scopus, 2 статті – у закордонних фахових наукових виданнях держави, яка входить до Організації економічного співробітництва та розвитку і Європейського Союзу (Польща), 4 статті – у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України.

Вірогідність наукових положень, висновків і рекомендацій підтверджується їх апробацією у відкритому друку і доповідями з позитивною оцінкою на міжнародних конгресах і конференціях: 18 робіт – у матеріалах конгресів і конференцій, зокрема 9 з них – зарубіжні (Варшава-Польща, Афіни-Греція, Люблін-Польща, Санкт-Галлен-Швейцарія, Ченстохова-Польща, Бостон-США).

Дисертація ілюстрована мікрофотографіями високої якості, таблицями, діаграмами, що підтверджує обсяг проведених досліджень.

Результати досліджень виконані на апаратурі, яка пройшла державний метрологічний контроль і має високу вірогідність. Матеріали, наведені в дисертації, відповідають звітам і первинній документації з НДР.

Новизна наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Наукова новизна роботи полягає в тому, що автором на підставі проведеного комплексного гістологічного, електронно-мікроскопічного, імуногістохімічного, статистичного дослідження зроблено нове науково обґрунтоване положення про гетерогенність морфологічної будови та ультраструктури інвазивного компонента залежно від молекулярно підтипу протокової карциноми. Показано, що люмінальний А і В раки грудної залози різноманітні за гістоархітектонікою інвазивного компонента, а достовірне переважання однотипних гістологічних структур визначено в потрібному негативному раку грудної залози.

Проведено порівняльний аналіз морфометричних параметрів експресії Е-кадгерину, CD31, COX-2, CD3 CD20 CD56 в молекулярних підтипах інфільтративного протокового раку грудної залози і встановлено кореляційні і поєднані зв'язки з клініко-патологічними прогностичними чинниками перебігу захворювання T, N, G.

Уточнено наукові дані про морфологію мікросудин в інвазивному компоненті потрібного негативного і Her2/neu+ молекулярних підтипів – наявність множинних атипових дилатованих капілярів і структур з частковою ендотеліальною вистилкою в інтратуморальній стромі є несприятливим прогностичним чинником.

Автором встановлено особливості лімфоїдного мікрооточення та оцінено розподіл інфільтруючих пухлину Т-і В-лімфоцитів та НК-клітин в різних молекулярних підтипах, свідченням чого є достовірне переважання Т-і В-лімфоцитів внутрішньопухлинно і біля інвазивного краю в нелюмінальних підтипах в порівнянні з люмінальними А і В; щільність розподілу внутрішньопухлинних Т-лімфоцитів була найвищою в потрібному негативному раку і значно достовірно переважала за щільність в люмінальному підтипі А.

Автором проведено мультифакторний регресійний аналіз, який дозволяє виділити зі значної кількості взаємодіючих чинників головні, що дає змогу прогнозувати значення показників CD3, CD20, CD56 для пацієнтів кожної групи.

Всі положення, висновки і рекомендації, наведені в дисертації, свідчать про завершеність наукової роботи, висвітлюють загальнотеоретичну та практичну значимість дослідження, є науковим вирішенням кожного із поставлених завдань і свідчать про досягнення загальної мети роботи.

Практичне значення результатів дослідження

Практичне значення дисертаційної роботи Дудаша А.П. в тому, що для закладів охорони здоров'я розроблено та впроваджено в практику спосіб оцінки пухлинних судин в інфільтративному протоковому раку грудної залози. Це полягає в тому, що наявність в потрійному негативному і Her2/neu+ підтипах множинних атипових дилатованих капілярів і структур з частковою ендотеліальною вистилкою в інтратуморальній стромі є провідним несприятливим морфологічним прогностичним чинником (Інформаційний лист про нововведення, 2023).

Запропонована регресійна мультифакторна модель дозволяє спрогнозувати значення показників CD3, CD20, CD56 в інфільтративному протоковому раку грудної залози залежно від поданих факторних ознак, що має медичне та економічне значення, дасть змогу приймати оперативне рішення стосовно лікування без очікування результатів дороговартісних досліджень.

Автором запропоновано виділення пухлин з надмірною експресією COX-2 в окрему групу на основі дослідження та оцінки експресії, так як надмірна експресія COX-2 асоціювалася з потрійним негативним та Her2/neu+ фенотипами з метастатичним ураженням лімфатичних вузлів.

Позитивним є впровадження результатів наукового дослідження у практичну роботу Західноукраїнської гістологічної лабораторії, патологоанатомічного відділення Львівського онкологічного регіонального лікувально-діагностичного центру, патологоанатомічного відділення комунального підприємства «Рівненська обласна клінічна лікарня імені Юрія Семенюка» Рівненської обласної ради. Теоретичні положення дисертаційної роботи використовуються у навчальному процесі на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини, у науковій роботі лабораторії електронної мікроскопії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, в опублікованих працях

За матеріалами дисертації опубліковано 29 наукових праць: 9 статей, з них 1 стаття у колективній монографії, виданій закордоном (Collective monograph Medical University of Lublin, Poland), 2 статті – у закордонних фахових наукових виданнях, що входять у міжнародну наукометричну базу Scopus, 2 статті – у закордонних фахових наукових виданнях (Польща), 4 статті – у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України; 18 робіт – у матеріалах конгресів і конференцій. Публікації у повній мірі висвітлюють результати проведених досліджень.

Основні наукові положення були представлені на престижних конференціях і конгресах: 17th St. Gallen International Breast Cancer Conference (17–21 March 2021), 18th St. Gallen International Breast Cancer Conference (Vienna 15-18.03.2023), XXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Patologów, Poznan, 13-15.10.2022) - Диплом 1 ступеня; 14th Warsaw International Medical Congress for Young Scientists (May 10-13th, 2018, Warsaw, Poland) та інші.

Характеристика розділів, оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому

Дисертація оформлена згідно з існуючими вимогами, структура її традиційна. Дисертація складається із анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень з узагальненнями, висновків, списку використаних джерел і додатків. Дисертація викладена українською мовою на 269 сторінках друкованого тексту, з них 164 сторінок основного тексту. Список використаної літератури містить 274 джерела на 33 сторінках. Дисертація ілюстрована 71 рисунком і 21 таблицею.

Анотація представлена українською та англійською мовами відповідно з вимогами. У вступі дисертант переконливо висвітлює актуальність теми, подає мету і завдання дослідження, формулює об'єкт і предмет дослідження, наукову новизну та практичне значення дисертації.

У першому розділі представлено детальний огляд літератури, в якому автор аналізує стан проблеми, посилаючись на найбільш вдалі та коректні джерела, що підтверджує важливість обраного дослідження. Даний розділ

включає чотири підрозділи, в яких розглядаються характеристики молекулярних підтипів інфільтративного протокового раку грудної залози, клініко-морфологічні прогностичні чинники перебігу, імуногістохімічна характеристика для оцінки прогностичних чинників. Автор подає низку важливих не вирішених питань і визначає найважливіші напрями їх подальшого розв'язання.

У другому розділі автором подається необхідна інформація щодо матеріалів та методів дослідження. Використані в роботі морфологічні, в тому числі імуногістохімічні методи дослідження, морфометричні, електронна мікроскопія і статистичний аналіз дозволяють у повному обсязі розв'язати поставлені завдання.

У третьому розділі подано характеристику молекулярних підтипів, порівняльний аналіз гістологічних структур в інвазивному компоненті різних молекулярних підтипів протокового раку грудної залози, ультраструктуру поверхневої конфігурації пухлинних клітин зі збереженням, зменшенням або відсутністю асиметричних мікрворсинок на клітинній поверхні. Показано, що інфільтративна протокова карцинома грудної залози демонструє гетерогенність з точки зору морфологічної картини, гістоархітекtonіки, ультраструктури, які асоційовані з молекулярним підтипом. Розділ викладений на 37 сторінках, складається із 3 підрозділів, ілюстрований 25 рисунками з підписами і позначками, скано-електронограмами високої якості, графіками, таблицями, які наочно демонструють морфологічні, електронно-мікроскопічні особливості протокового раку грудної залози. В кінці розділу подається висновок і перелік наукових праць здобувача, в яких представлені результати проведеного дослідження.

У четвертому розділі проаналізовано особливості експресії молекул клітинної адгезії E-кадгерину, COX-2 в асоціації з клініко-патологічними параметрами, CD31 і морфологічні особливості пухлинного ангиогенезу, особливості лімфоїдного мікрооточення (CD3, CD20, CD56) в різних молекулярних підтипах інвазивного протокового раку грудної залози. Автором представлено порівняльну характеристику прогностичних змінних та кореляційні взаємозв'язки між ними і відомими прогностичними чинниками. Розділ викладений на 57 сторінках, складається з 4 підрозділів, ілюстрований

17 рисунками мікрофотографій високої якості з підписами, 7 таблицями. В кінці розділу подається висновок і перелік наукових праць здобувача, в яких представлені результати проведеного дослідження.

У п'ятому розділі представлено аналіз експресії маркерів, що характеризують інвазивні властивості протокового раку грудної залози, їх зв'язок із морфологічними параметрами і основними прогностичними чинниками та молекулярним підтипом пухлини. У хворих з потрійним негативним підтипом встановлено поєднані взаємозв'язки наявності атипових дилатованих капілярів, внутрішньопухлинних CD3 і CD20 лімфоцитів (у %) і стадії N, які демонструють, що при наявній більшій стадії N (ураження лімфатичних вузлів) частка CD3 і CD20 внутрішньопухлинних лімфоцитів зростає при збільшенні кількості атипових дилатованих капілярів. У групі пацієнтів з Her-2/neu молекулярним підтипом протокового раку встановлено поєднаний взаємозв'язок між низькою експресією E-кадгерину, структурами з частковою ендотеліальною вистилкою і відсотком CD20 лімфоцитів на інвазивному краї пухлини, який демонструє, що в пухлинах з низькою експресією E-кадгеринів спостерігається збільшення структур з частковою ендотеліальною вистилкою і збільшення відсотка CD20 лімфоцитів на інвазивному краї пухлини. Розділ викладений на 28 сторінках, ілюстрований 21 рисунком графіків і тривимірних діаграм з підписами. В кінці розділу подається висновок і перелік наукових праць здобувача, в яких представлені результати проведеного дослідження.

Шостий розділ присвячений моделюванню прогностичних рівнів пухлино-інфільтруючих лімфоцитів при різних молекулярних підтипах інфільтративного протокового раку грудної залози. У розділі автором проведено мультифакторний регресійний аналіз для безпомилкового виділення із великої кількості взаємодіючих чинників незалежних факторних показників. Включення показників у модель прогнозування відбувалось за допомогою методу покрокового відбору, що дозволило відібрати значимі найоптимальніші моделі для кожної групи пацієнтів і прогнозувати значення показників CD3, CD20, CD56 залежно від поданих чинників. Розділ викладений на 29 сторінках, ілюстрований таблицями, графіками, рівняннями. В кінці розділу подається висновок і перелік наукових праць здобувача, в яких

представлені результати проведеного дослідження.

Висновки до дисертації логічно підсумовують результати роботи, відповідають завданням дослідження та поставленій меті.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності

Проведена перевірка рукопису дисертаційної роботи Дудаша Андрія Петровича «Інфільтративний протоковий рак грудної залози: клініко-морфологічні та імуногістохімічні особливості різних молекулярних підтипів і прогнозування перебігу» на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина на плагіат за допомогою програми StrikePlagiarism. Відсоток унікальності авторського тексту дисертаційної роботи становить 96,75 %, що дозволяє оцінити її задовільно в контексті літературних посилань щодо інших публікацій та інтернет-ресурсів.

Аналіз матеріалів дисертації та публікацій здобувача не виявив порушення автором академічної доброчесності. У рукописі дисертації Дудаша Андрія Петровича «Інфільтративний протоковий рак грудної залози: клініко-морфологічні та імуногістохімічні особливості різних молекулярних підтипів і прогнозування перебігу» не встановлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фальсифікацій, фабрикації та інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертантом наукового дослідження. Дисертаційна робота Дудаша Андрія Петровича є оригінальною завершеною науковою працею.

Зауваження та побажання до дисертації щодо її змісту та оформлення

Зміст і стиль викладу матеріалу в дисертаційній роботі відповідає сучасним вимогам. Здобувач виконав велике за обсягом та аналізом наукове дослідження, робота є унікальною і актуальною. Принципових недоліків у дисертації мною не виявлено, але є такі зауваження: В огляді літератури дисертант інколи занадто деталізує окремі наукові положення. Загальні висновки дисертації викладені на чотирьох сторінках, дуже об'ємні, перевантажені інформацією, особливо третій висновок, можна було стисліше представити узагальнення отриманих результатів. У тексті дисертації трапляються поодинокі стилістичні та друкарські помилки. Вказані побажання

та зауваження не зменшують теоретичного значення та науково-практичну цінність дисертаційної роботи і не перешкоджають загальному позитивному враженню від роботи.

В процесі ознайомлення з роботою виникли запитання, на які хотілося б почути відповіді:

1. Чи була можливість визначити експресію білка TGF- β та наявність T-Reg лімфоцитів, які разом є супресорами функції T-цитотоксичних лімфоцитів?
2. Як у цілому автор оцінює рівень імунологічної толерантності при неоплазії?
3. У пухлинах люмінального А підтипу у більшості випадків переважала висока експресія E-кадгерину. Які були знайдені Вами достовірні кореляційні і поєднані зв'язки між високою експресією E-кадгерину та іншими прогностичними чинниками?
4. На Вашу думку, чим можна пояснити у деяких випадках люмінального А підтипу низьку експресію E-кадгерину?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Дудаша Андрія Петровича «Інфільтративний протоковий рак грудної залози: клініко-морфологічні та імуногістохімічні особливості різних молекулярних підтипів і прогнозування перебігу», виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького під керівництвом доктора медичних наук, професора Волос Лілії Іванівни і представлена на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина, є самостійно виконаною і завершеною науковою працею, яка містить нове вирішення наукової задачі – підвищення якості діагностики інфільтративного протокового раку грудної залози шляхом визначення клініко-морфологічних, ультраструктурних та імуногістохімічних особливостей молекулярних підтипів і встановлення їх зв'язку з прогностичними чинниками перебігу захворювання.

За актуальністю обраної теми дослідження, поставленими метою і завданнями, методичним підходом до виконання дослідження, науковою

новизною, репрезентативністю отриманих результатів, їх теоретичним і практичним значенням, об'єктивністю та обґрунтованістю висновків, дисертаційна робота Дудаша Андрія Петровича «Інфільтративний протоковий рак грудної залози: клініко-морфологічні та імуногістохімічні особливості різних молекулярних підтипів і прогнозування перебігу» відповідає вимогам Порядку присудження доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 № 44, та наказу МОН України від 12.01.2017 № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а її автор заслуговує присудження ступеня доктора філософії у галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина.

Офіційний опонент -

Професор кафедри променевої діагностики,
терапії, радіаційної медицини та онкології
Одеського національного медичного
університету МОЗ України,
доктор медичних наук, доцент



О. В. Бондар

