

РЕЦЕНЗІЯ

кандидата біологічних наук,
наукового співробітника відділу патофізіології метастазування
Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології

ім. Р. Є. Кавецького НАН України

ПРОХОРОВОЇ ІРИНИ ВОЛОДИМИРІВНИ

на дисертаційну роботу

ПАВЛОВОЇ АННИ ОЛЕКСАНДРІВНИ

**«Роль макрофагального та мастоцитарного стромально-імунного
мікрооточення в оцінці ступеня злоякісності раку молочної залози»,**
подану на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія»
зі спеціальності 091 «Біологія»

Актуальність і наукова спрямованість роботи

Рак молочної залози залишається одним із найбільш актуальних об'єктів сучасної онкобіології, а поглиблення уявлень про закономірності його прогресування потребує врахування не лише властивостей пухлинних клітин, а й стану його мікрооточення. Компоненти позаклітинного матриксу, цитокіни та інші регуляторні молекули формують складну, ієрархічно організовану систему взаємодій, тісно пов'язану з біологічним потенціалом пухлини та особливостями її прогресування.

Дисертаційну роботу Павлової Анни Олександрівни присвячено комплексному, системному аналізу макрофагальної та мастоцитарної ланок стромально-імунного мікрооточення раку молочної залози у взаємозв'язку з ключовими клініко-патологічними характеристиками неоплазії, сироватковими рівнями інтерлейкінів IL-6 та IL-10, локальною експресією матрицелюлярних протеїнів, а також профілем регуляторних мікроРНК. Обраний напрям є актуальним, а комплексний характер дослідження дозволяє розглядати окремі показники не ізольовано, а як складові єдиної системи мікрооточення цієї форми раку.

Наукова новизна одержаних результатів

У роботі одержано нові дані щодо кількісних, просторових і функціональних характеристик мастоцитарного компонента при РМЗ. Показано, що загальна кількість мастоцитів, їх інтратуморальна та стромальна локалізація, ступінь дегрануляції та зрілості є відносно самостійними характеристиками і можуть по-різному змінюватися залежно від клініко-патологічних особливостей пухлини.

Важливими є результати щодо макрофагальної інфільтрації. Встановлено збільшення кількості CD68⁺ -макрофагів при II стадії, T2 та N⁺, тоді як підвищена представленість CD163⁺ -клітин була характерною для низькодиференційованих пухлин і базального молекулярного підтипу. Такий підхід дозволив продемонструвати неоднорідність макрофагального компонента та обґрунтувати необхідність паралельної оцінки експресії CD68 і CD163.

Окремий блок дослідження присвячено детальному аналізу цитокінового профілю. Незважаючи на виявлену значну індивідуальну варіабельність сироваткових рівнів IL-6 та IL-10, інтегрований аналіз дозволив встановити їхні чітко виражені асоціації з параметрами макрофагальної інфільтрації пухлинної тканини. Отримані дані свідчать про інформативність поєднаної оцінки клітинних і гуморальних чинників мікрооточення та обґрунтовують доцільність їх комплексного аналізу.

Значний фундаментальний інтерес становлять результати дослідження матрицелюлярних протеїнів OPN і ON та відповідних генів *SPP1* і *SPARC*. У роботі встановлено асоціації їх експресії з окремими ознаками агресивного фенотипу раку молочної залози, зокрема з лімфогенним метастазуванням (категорія N), ступенем диференціювання пухлини та її молекулярним підтипом. Водночас авторка демонструє високу методологічну коректність, чітко розмежовуючи показники експресії на рівні мРНК та білка і зважаючи на їхню потенційну дисоціацію, що додає результатам додаткової наукової валідності.

Оригінальним є встановлення топологічно залежних асоціацій OPN із клітинними компонентами мікрооточення. Паренхіматозна експресія OPN була переважно пов'язана з перерозподілом мастоцитів у пухлинній тканині, тоді як стромальна — з їх накопиченням та змінами макрофагального профілю. Саме стромальна експресія OPN асоціювалася з відносним збагаченням мікрооточення CD163⁺-макрофагами.

Додаткову цінність роботі надає включення регуляторних мікроРНК та узагальнення отриманих результатів у межах комплексної моделі стромально-імуного мікрооточення. Це дозволило авторці показати, що ознаки злоякісності РМЗ доцільно характеризувати не за одним маркером, а за сукупністю клітинних, молекулярних і топологічних показників.

Методичний рівень і достовірність дослідження

Матеріалом дослідження слугували зразки пухлинної тканини хворих на рак молочної залози I–II стадій, а як групу порівняння використано тканину фіброаденом. Клініко-патологічна характеристика вибірки охоплювала основні параметри пухлинного процесу, зокрема категорії T і N, ступінь диференціювання, гістологічний тип, молекулярний підтип, рецепторний статус та проліферативну активність.

Для реалізації поставлених завдань використано комплекс взаємодоповнювальних методів: морфологічні та гістохімічні дослідження, імуногістохімію, імуноферментний аналіз, кількісну ПЛР, біоінформатичні підходи та статистичний аналіз. Така методична побудова відповідає меті роботи та забезпечує можливість зіставлення морфологічних, клітинних і молекулярних характеристик.

Результати представлено з використанням відповідних параметричних і непараметричних статистичних методів залежно від характеру даних. Позитивно слід відзначити обережність авторки в інтерпретації встановлених асоціацій: у роботі послідовно розмежовано статистичний взаємозв'язок і причинно-наслідкові механізми, які потребують окремої експериментальної перевірки.

Аналіз змісту та структури дисертації

Дисертаційна робота викладена на 192 сторінках і має логічну структуру: анотацію, вступ, огляд літератури, розділ матеріалів і методів, чотири розділи власних досліджень, розділ аналізу та узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел і додаток. Робота ілюстрована 58 рисунками та 15 таблицями, що сприяє наочному представленню значного обсягу фактичного матеріалу.

У першому розділі систематизовано сучасні уявлення про пухлинне мікрооточення РМЗ, роль макрофагів і мастоцитів, цитокінових сигналів, матрицелюлярних білків та регуляторних мікроРНК. Огляд літератури формує достатнє теоретичне підґрунтя для постановки мети й завдань власного дослідження.

Другий розділ містить характеристику клінічного матеріалу та опис використаних методів. Наведено критерії оцінки мастоцитарної та макрофагальної інфільтрації, підходи до визначення експресії OPN/ON, цитокінів і досліджуваних мікроРНК, а також принципи статистичної обробки отриманих результатів.

У третьому розділі представлено результати дослідження мастоцитів. Особливої уваги заслуговує роздільна оцінка їх кількості, локалізації, дегрануляції та зрілості. Отримані дані демонструють, що ці характеристики не є взаємозамінними та по-різному пов'язані з клініко-патологічними параметрами РМЗ.

Четвертий розділ присвячено пухлино-асоційованим макрофагам. Проведена оцінка CD68⁺ - і CD163⁺ -клітин дозволила виявити різні варіанти перебудови макрофагальної інфільтрації залежно від розміру пухлини, стану регіонарних лімфатичних вузлів, ступеня диференціювання та молекулярного підтипу.

У п'ятому розділі клітинні показники доповнено аналізом IL-6 та IL-10 і регуляторних мікроРНК. Важливим результатом є встановлення асоціацій між високими рівнями цитокінів і змінами макрофагальної

інфільтрації, що підкреслює доцільність комплексного аналізу локальних і системних компонентів.

Шостий розділ містить результати дослідження *SPP1/SPARC* та *OPN/ON*. Авторкою показано значення не лише рівня експресії, а й тканинної локалізації *OPN*, що особливо чітко проявилось у взаємозв'язках із макрофагальним і мастоцитарним компонентами. Представлені результати є одним із найбільш змістовних елементів роботи.

У сьомому розділі проведено узагальнення результатів та їх зіставлення з сучасними літературними даними. Запропонований інтегрований підхід дозволяє представити досліджені клітинні та молекулярні показники як взаємопов'язані складові стромально-імунного мікрооточення РМЗ, не перебільшуючи при цьому причинного значення встановлених асоціацій.

Практичне значення, публікації та апробація

Практичне значення одержаних результатів полягає в науковому обґрунтуванні доцільності комплексної оцінки клітинного складу, просторової компартменталізації та функціонального стану елементів мікрооточення в поєднанні з цитокіновими і матрицелюлярними показниками для поглибленої патоморфологічної характеристики біологічних властивостей раку молочної залози. Прикладний характер дослідження підтверджується тим, що отримані дані щодо експресії генів *SPP1/SPARC* та відповідних протеїнів *OPN/ON* безпосередньо впроваджено у практику через підготовку методичних рекомендацій. За темою дисертації опубліковано 13 наукових праць, серед яких 5 статей у виданнях, що індексуються Scopus та Web of Science, одне видання методичних рекомендацій і 7 тез доповідей; результати роботи апробовано на наукових конференціях.

Зауваження та питання для дискусії

Принципових зауважень до дисертаційної роботи немає. Водночас окремі положення та результати можуть бути уточнені в межах наукової

дискусії або враховані під час подальшого розвитку цього перспективного наукового напрямку.

1. Варто відзначити певну нерівномірність кількісного складу окремих клініко-патологічних підгруп, зокрема за ступенем диференціювання та молекулярними підтипами пухлин. Це не заперечує встановлених закономірностей, однак потребує обережності при їх узагальненні та подальшій верифікації на більших і більш збалансованих вибірках.

2. З огляду на значну кількість досліджених показників, міжгрупових зіставлень і кореляцій, у перспективі доцільним було б провести незалежну валідацію найбільш значущих асоціацій та визначити, які з них зберігають інформативність у багатофакторних моделях.

3. Гістохімічна оцінка мастоцитів дозволила охарактеризувати їх кількість, локалізацію, дегрануляцію та зрілість у тканині раку молочної залози. Водночас додаткове використання імуногістохімічних маркерів, зокрема триптази та хімази, могло б у подальших дослідженнях розширити характеристику функціональних субпопуляцій цих клітин.

4. В окремих таблицях і підписах до рисунків доцільно уніфікувати мову позначень, скорочення та оформлення статистичних показників. Така редакційна корекція полегшила б сприйняття значного обсягу цифрового матеріалу, не впливаючи на зміст і достовірність одержаних результатів.

У порядку дискусії хотілося б почути відповіді на такі запитання:

1. Поясніть, будь ласка, чим було обґрунтовано Ваше методологічне рішення окремо оцінювати експресію OPN у пухлинному та стромальному компартментах раку молочної залози? Чому загальна (сумарна) оцінка цього маркера у пухлинній тканині була б менш інформативною?

2. Зважаючи на представлені Вами дані щодо функціональної гетерогенності мікрооточення, поясніть, будь ласка, чому при оцінці мастоцитарного компонента важливо враховувати не лише загальну кількість мастоцитів, а й їх просторову локалізацію та ступінь дегрануляції? Яке саме

клініко-біологічне значення мають ці параметри в контексті прогресії раку молочної залози?

Висновок

Дисертаційна робота Павлової Анни Олександрівни «Роль макрофагального та мастоцитарного стромально-імуного мікрооточення в оцінці ступеня злоякісності раку молочної залози», представлена на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091-Біологія, є завершеним самостійним науковим дослідженням, у якому отримано нові дані щодо клітинних, топологічних і молекулярних характеристик пухлинного мікрооточення та їх асоціацій із біологічними особливостями РМЗ. Робота виконана на належному методичному рівні, характеризується логічною структурою, достатнім обсягом фактичного матеріалу, науковою новизною і практичним значенням.

За сукупністю представлених результатів дисертаційне дослідження повністю відповідає наказу МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. №40 та положенню Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (зі змінами, внесеними згідно із постановою Кабінету Міністрів України №341 від 21.03.2022р. та постановою Кабінету Міністрів України №502 від 19.05.2023р.). Тому вважаю, що Павлова Анна Олександрівна заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 - Біологія за спеціальністю 091 - Біологія.

Рецензент

кандидат біологічних наук,
науковий співробітник відділу
патофізіології метастазування

ІЕПОР ім. Р. Є. Кавецького НАН України

Ірина ПРОХОРОВА