

РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента, кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника відділу функціональної геноміки та прогресії раку Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології

ім. Р. Є. Кавецького НАН України

Яніша Юрія Вадимовича

на дисертаційну роботу

Павлової Анни Олександрівни

на тему:

«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 теми дисертації

Рак молочної залози (РМЗ) залишається однією з найбільш актуальних проблем сучасної онкології. Сучасна онкологічна парадигма базується на розумінні того, що біологічний потенціал та агресивність пухлини визначаються не лише автономними характеристиками злоякісно трансформованих клітин, а й динамічною архітектонікою їхньої взаємодії з клітинними та позаклітинними компонентами туморогенного мікрооточення. Макрофаги, мастоцити, цитокіни та матрицелюлярні протеїни формують складну систему взаємозв'язків, що безпосередньо модулює проліферативну активність, ступінь диференціювання та метастатичний потенціал раку молочної залози.

Дисертаційна робота Павлової Анни Олександрівни присвячена комплексній характеристиці стромально-імунного мікрооточення раку молочної залози та встановленню його асоціацій з основними клініко-патологічними характеристиками пухлинного процесу. Актуальність обраного напрямку визначається необхідністю пошуку додаткових показників, які могли б

поглибити уявлення про біологічну неоднорідність РМЗ і доповнити традиційні морфологічні та клінічні критерії.

Зв'язок дисертації з науковими програмами, планами і темами

Дисертаційна робота виконана у відділі цитоморфології та молекулярно-біологічних маркерів пухлинного росту ІЕПОР ім. Р. Є. Кавецького НАН України в межах планових науково-дослідних тем «Розроблення та валідація технології комплексного лікування на рак молочної залози хворих молодого віку» (2022-2023, № 0122U201203) та «Роль маркерів ремоделювання кісткової тканини у формуванні ступеня злоякісності найбільш розповсюджених гормонозалежних новоутворень» (2024-2028, № 0118U005468). Тематика дисертації відповідає загальному напрямку досліджень Інституту щодо вивчення біологічних закономірностей пухлинного росту та чинників, пов'язаних з агресивністю злоякісних новоутворень.

Наукова новизна та значення одержаних результатів

Наукова новизна дослідження полягає у проведенні комплексного, системного аналізу взаємопов'язаних компонентів стромально-імунного мікрооточення раку молочної залози. Авторкою переконливо доведено, що мастоцитарний компонент є функціонально гетерогенним і не може бути об'єктивно охарактеризований виключно за критерієм щільності клітинної інфільтрації. У роботі вперше встановлено відносну незалежність таких параметрів, як чисельність мастоцитів, їх просторова компартменталізація, ступінь дегрануляції та зрілості. Важливе науково-практичне значення має виявлена асоціація цих показників залежно від ключових клініко-морфологічних характеристик пухлини: категорій T і N, ступеня диференціювання (G), молекулярного підтипу, рецепторного статусу (ER, PR, HER2) та індексу проліферативної активності Ki-67. Важливими є результати дослідження макрофагального компонента. Встановлено збільшення кількості

CD68⁺ -макрофагів при II стадії захворювання, категоріях T2 та N⁺ , тоді як підвищена представленість CD163⁺ -клітин була характернішою для низькодиференційованих і базальних пухлин. Паралельна оцінка CD68⁺ - і CD163⁺ -макрофагів та їх співвідношення дозволила продемонструвати неоднорідність макрофагального мікрооточення за різних клініко-біологічних варіантів РМЗ.

Заслужують на увагу результати щодо IL-6 та IL-10. Незважаючи на значну індивідуальну варіабельність їх сироваткових рівнів, інтегрований аналіз виявив чіткі асоціації цитокінового профілю з макрофагальною інфільтрацією пухлинної тканини. Це підкреслює доцільність комплексної інтерпретації системних і локальних показників, а не використання окремого цитокіну як ізолизованого маркера.

Оригінальним компонентом роботи є дослідження матрицелюлярних протеїнів остеопонтину (OPN) та остеонектину (ON) з урахуванням їх локалізації у тканині РМЗ. Авторкою показано, що біологічне значення OPN залежить від компартмента експресії. Саме стромальна експресія OPN була пов'язана зі змінами макрофагального складу та мастоцитарної інфільтрації, тоді як паренхіматозна експресія мала інший характер асоціацій з просторовим розподілом мастоцитів. Такий підхід дозволив продемонструвати значення не лише рівня експресії маркера, але й його топології у тканині пухлини.

Дослідження регуляторних мікроРНК доповнює отримані дані та дає можливість розглядати виявлені клітинні й молекулярні зміни як елементи єдиної системи пухлинного мікрооточення. Важливо, що у роботі ці результати не подаються ізоковано, а інтегруються з морфологічними, імуногістохімічними та клініко-патологічними характеристиками РМЗ.

Обґрунтованість та достовірність результатів

Дослідження виконано на клінічному матеріалі 134 хворих на рак молочної залози I-II стадій та 30 пацієнток із фіброаденомою, яку використано

як групу порівняння. Клінічний матеріал охарактеризовано за основними параметрами пухлинного процесу, зокрема стадією, категоріями T і N, гістологічним типом, ступенем диференціювання, молекулярним та рецепторним статусом. Важливо, що до оперативного втручання пацієнтки не отримували неоад'ювантної терапії, що зменшує ймовірність впливу попереднього лікування на досліджувані тканинні показники.

Методичний комплекс відповідає поставленій меті та завданням і включає морфологічні, гістохімічні, імуногістохімічні, імуноферментні, молекулярно-біологічні, біоінформатичні та статистичні підходи. Особливо позитивним є зіставлення кількісних характеристик клітинної інфільтрації з просторовим розподілом і функціональним станом мієлоїдних клітин. Висновки сформульовано переважно у категоріях асоціацій та взаємозв'язків, що відповідає характеру проведеного дослідження та не виходить за межі отриманих даних.

Структура дисертації та оцінка окремих розділів

Дисертація викладена на 192 сторінках, містить 7 розділів, 58 рисунків, 15 таблиць, 133 джерела літератури та додаток. Робота побудована логічно: після огляду літератури та характеристики матеріалів і методів послідовно представлено результати дослідження мастоцитарного, макрофагального, цитокінового і матрицелюлярного компонентів, а завершальний розділ узагальнює одержані дані.

У першому розділі систематизовано сучасні відомості про пухлинне мікрооточення РМЗ, його клітинні та гуморальні складові, а також роль матрицелюлярних протеїнів у міжклітинних і клітинно-стромальних взаємодіях. Огляд літератури безпосередньо пов'язаний із завданнями власного дослідження та створює достатнє теоретичне підґрунтя для інтерпретації результатів.

У другому розділі детально описано дизайн дослідження, характеристику клінічної вибірки та використані методи. Представлений комплекс методичних підходів дозволяє оцінити досліджувані показники на тканинному, клітинному та молекулярному рівнях і зіставити їх з основними клініко-патологічними характеристиками РМЗ.

У третьому розділі продемонстровано особливості мастоцитарного компонента. Показано, що у тканині РМЗ загальна щільність мастоцитів була у 2 рази, а інтратуморальна - у 5,9 рази вищою порівняно з фіброаденомою. Водночас індекс дегрануляції був вищим у фіброаденомах. Подальший аналіз показав, що кількість, локалізація, дегрануляція та зрілість мастоцитів характеризують різні аспекти мастоцитарної реакції та мають неоднакові асоціації з клініко-патологічними характеристиками пухлини.

У четвертому розділі охарактеризовано макрофагальну інфільтрацію РМЗ. Встановлено просторову неоднорідність розподілу CD68⁺ - і CD163⁺ - макрофагів та їх різні асоціації з характеристиками пухлинного процесу. Отримані результати переконливо демонструють доцільність паралельної оцінки декількох показників макрофагального компонента замість спрощеної інтерпретації за одним маркером.

П'ятий розділ присвячено аналізу IL-6 та IL-10 і їх зв'язку з макрофагальною інфільтрацією, а також оцінці регуляторних мікроРНК. Показано, що сироваткові рівні цитокінів характеризуються значною індивідуальною варіабельністю, однак при комплексному аналізі виявляються виражені зв'язки з клітинним складом пухлинного мікрооточення. Це є важливим результатом, оскільки демонструє перевагу інтегрованого підходу над оцінкою окремих показників.

У шостому розділі досліджено експресію *SPP1/SPARC* та відповідних протеїнів OPN/ON. Особливу цінність має окрема оцінка пухлинного і стромального компонентів експресії OPN. Виявлені топологічно залежні

асоціації з макрофагами та мастоцитами дозволили пов'язати матрицелюлярний компонент із клітинними характеристиками мікрооточення без надмірного механістичного трактування результатів.

У цьому розділі проведено узагальнення отриманих результатів та представлено інтегральне бачення змін стромально-імунного мікрооточення РМЗ. Позитивно, що авторка підкреслює комплексний характер встановлених закономірностей і розглядає запропоновані поєднання показників як перспективні для подальшої валідації, а не як готову клінічну діагностичну систему.

Практичне значення, публікації та особистий внесок здобувача

Практичне значення роботи полягає в обґрунтуванні комплексної оцінки клітинного складу, просторової локалізації та функціонального стану мієлоїдних клітин у поєднанні з цитокіновими та матрицелюлярними показниками для поглибленої характеристики біологічної агресивності РМЗ. Результати щодо *SPP1/SPARC* та *OPN/ON* використано при підготовці методичних рекомендацій «Матрицелюлярні протеїни як маркери агресивності перебігу раку молочної залози».

За темою дисертації опубліковано 13 наукових праць, серед яких 5 статей у виданнях, що індексуються у базах Scopus та Web of Science, одне видання методичних рекомендацій та 7 тез доповідей. Основні положення роботи апробовано на наукових конференціях. Особистий внесок здобувачки полягає в участі у формуванні та систематизації клінічного матеріалу, виконанні значної частини експериментальних досліджень, аналізі та інтерпретації результатів, статистичній обробці даних і підготовці наукових публікацій.

Зауваження та запитання до здобувача

Зазначені нижче зауваження є переважно рекомендаційними та не знижують наукової цінності й загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

1. У дисертаційній роботі доцільно уніфікувати стилістику представлення таблиць і рисунків. Зокрема, у деяких ілюстративних матеріалах наведено англomовні назви показників, що дещо ускладнює сприйняття графічних даних. Рекомендується привести зазначені елементи до єдиного мовного стилю відповідно до чинних вимог до оформлення наукових праць.

2. Клінічна когорта включає переважно ранні стадії РМЗ та оцінює регіонарне лімфогенне метастазування (N0/N1). Тому твердження щодо загального метастатичного потенціалу доцільно формулювати обережно, оскільки віддалені метастази та пізні стадії пухлинного процесу не були предметом дослідження.

3. Виявлені авторкою асоціації OPN із топографічним перерозподілом та дегрануляцією мастоцитів є вкрай цікавими, проте їх безпосередній причинно-наслідковий напрям залишається до кінця не з'ясованим. Для беззаперечного доведення прямого хемотаксичного або активувального ефекту OPN щодо мастоцитарного компонента перспективним напрямом подальших досліджень було б проведення модельних експериментів *in vitro* з використанням клітинних культур або функціональних тестів міграції та дегрануляції.

У порядку дискусії прошу здобувачку відповісти на такі запитання:

1. Чому на вашу думку зв'язок із макрофагальною інфільтрацією було встановлено для OPN, але не для ON?

2. Чому при дослідженні мастоцитів було важливо оцінювати не лише їх кількість, а й локалізацію та ступінь дегрануляції?

Загальний висновок

Дисертаційна робота Павлової Анни Олександрівни «Роль макрофагального та мастоцитарного стромально-іммунного мікрооточення в оцінці ступеня злоякісності раку молочної залози» є завершеним самостійним науковим дослідженням, у якому отримано нові дані щодо клітинних, функціональних і молекулярних характеристик пухлинного мікрооточення та їх асоціацій із клініко-патологічними особливостями РМЗ. Робота має належний методичний рівень, достатню доказову базу, наукову новизну та практичне значення, а одержані результати опубліковано й апробовано у фаховому науковому середовищі.

За актуальністю, обсягом виконаних досліджень, науковою новизною, обґрунтованістю отриманих результатів і висновків, рівнем публікацій та особистим внеском здобувачки дисертаційна робота відповідає вимогам, що висуваються до робіт на здобуття ступеня доктора філософії, а її авторка Павлова Анна Олександрівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент,

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник
ІЕПОР ім. Р. Є. Кавецького НАН України



Ю. В. Яніш

