

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента доктора биологических наук, профессора  
Горошинской Ирины Александровны на диссертационную работу  
Вакуленко Майи Юрьевны на тему «Предикторы рака молочной железы  
у кошек», представленную к защите в диссертационный совет Д  
220.062.02 при федеральном государственном бюджетном  
образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский  
государственный аграрный университет» на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальности 06.02.01 – диагностика  
болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология  
животных**

**Актуальность темы диссертации.** Рецензируемая работа посвящена изучению предикторов рака молочной железы у домашних кошек, что учитывая увеличение частоты встречаемости онкологических заболеваний у домашних животных, следует отнести к одному из важнейших направлений современной ветеринарии. Поскольку эффективность лечения онкологических заболеваний напрямую зависит от ранней диагностики, актуальным остается выявление и использование онкомаркеров не только как предикторов перерождения здоровой ткани, но и для оценки эффективности медикаментозного лечения.

Работы последних лет позволили предположить значимость полиаминов в качестве онкомаркеров. Полиамины, к которым относятся путресцин, спермидин и спермин, участвуют в регуляции процессов клеточного роста, пролиферации и дифференцировки в норме и при развитии онкологического процесса. Прямое взаимодействие между онкогенами и метаболизмом полиаминов впервые было продемонстрировано при изучении роли фермента синтеза полиаминов орнитиндекарбоксилазы в активации



онкогена MYC (Pegg A.E. Functions of polyamines in mammals. J Biol Chem. 2016; 291:14904–14912. doi: 10.1074/jbc). В дальнейшем были получены и другие доказательства участия полиаминов в развитии онкологического процесса. Клинические исследования показали высокую эффективность в лечении рака одновременного применения Сулиндака, известного противовоспалительного средства, и D,L- $\alpha$ -Дифторметилорнитина, ингибитора синтеза полиаминов (Nakanishi S., Cleveland J.L. Polyamine homeostasis in development and disease. Medical Sciences. 2021; 9(2):28). Несмотря на рост публикаций о роли полиаминов в патогенезе рака, многие стороны метаболизма остаются неясными.

Предиктором возникновения аденокарциномы молочной железы у женщин является уровень активности аденозиндезаминазы (АДА). При этом, несмотря на увеличение частоты выявления онкологических заболеваний молочной железы у кошек, в доступной литературе отсутствовали работы по изучению активности АДА и уровня полиаминов у этих животных.

**Научная новизна полученных результатов.** В диссертационной работе М.Ю. Вакуленко на клиническом материале определены предикторы рака молочной железы у кошек. Впервые показано, что содержание полиаминов (путресцина и спермина) в крови кошек с новообразованиями молочной железы резко увеличивается, что позволяет использовать эти показатели в качестве предикторов рака. Впервые была изучена активность аденозиндезаминазы в плазме крови и проанализирована экспрессия гена *АДА* в тканях опухоли молочной железы кошек. Впервые разработаны ДНК-праймеры на ген *АДА*, кодирующий фермент аденозиндезаминазу, и полученные результаты позволили рекомендовать оценку экспрессии данного гена в тканях опухолей молочной железы у кошек для характеристики онкозаболевания.

Получены данные о встречаемости и распространенности клинико-морфологических форм рака молочной железы у кошек Ростовской области и



проведена сравнительная оценка диагностической ценности гистологических и цитологических методов у животных с патологией молочных желез.

Диссертационная работа является вполне завершенной по замыслу и результатам, содержит новые научные положения и практические рекомендации, которые успешно апробированы в условиях ветеринарных клиник Ростовской области.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций.** Научные положения, выводы и рекомендации по практическому применению результатов исследования, сформулированные и представленные в диссертационной работе, обоснованы фактическим материалом, который включает в себя достаточное количество наблюдений и исследований.

Методы, использованные автором в работе (ВЭЖХ, ПЦР и др.), специфичны, адекватны поставленным задачам и отвечают современному научно-методическому уровню исследований.

Полученные результаты сведены в таблицы, подвергнуты математической обработке, проанализированы и обобщены в выводах.

Представленный объем материала и его качество, с учетом комплексного обследования, является достаточным для решения поставленных задач. Научные положения, заключение и выводы, сделанные по результатам исследования, корректны и соответствуют цели и задачам диссертационной работы, подтверждены достаточным количеством фактического материала. Обоснованность научных положений, выдвинутых соискателем на защиту в диссертационном совете, основывается на согласованности результатов проведенных исследований и сделанных научных выводов.

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием современных технологий. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения.

Автореферат отражает основные положения диссертации и не вызывает



принципиальных замечаний.

### **Значимость результатов исследования для науки и практики.**

Полученные в диссертационной работе Вакуленко М.Ю. данные вносят вклад в разработку молекулярно-генетических подходов ранней диагностики рака молочной железы у млекопитающих, а также важны для понимания патофизиологических основ развития канцерогенеза в филогенезе. Оценка особенностей течения онкологического процесса (клиники, морфологии, биохимии) у животных, которые различаются по генетико-биохимическим показателям, позволяет существенно расширить современное представление о биологии канцерогенеза.

Предлагаемые диссертантом методики определения онкомаркеров могут быть использованы для диагностики и мониторинга лечения инвазивной неспецифической карциномы молочной железы у кошек в рутинной клинической диагностике в условиях ветеринарной клиники и в научно-исследовательской работе. Данные о численности популяции домашних кошек в Ростовской области и о частоте встречаемости новообразований молочной железы в этой популяции важны для планирования ветеринарных санитарно-эпидемиологических мероприятий в Ростове-на-Дону и области.

**Оценка содержания диссертации.** Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста, состоит из общепринятых разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и перспектив разработки темы. Библиографический список содержит 103 источника, из которых 38 отечественных и 65 зарубежных. Работа иллюстрирована 21 таблицей и 60 рисунками.

«Введение» посвящено актуальности темы диссертационной работы и степени ее разработанности. В нем четко сформулирована цель работы, определены задачи исследования, представлены положения, выносимые на



защиту. Также приводятся данные об апробации работы, публикациях, структуре и объёме диссертации.

В «Обзоре литературы» описывается современное состояние знаний о возникновении рака молочной железы и способах его диагностики, как у кошек, так и в медицинской практике, приводятся данные о механизмах возникновения новообразований молочной железы различной этиологии, их гистологическая классификация. Отдельный раздел обзора посвящен полиаминам как молекулярным и генетическим предикторам рака молочной железы, перспективам их использования в современной ветеринарии. Проанализирована эффективность существующих способов диагностики злокачественных новообразований молочной железы. Однако не могу не отметить, что большая часть использованной литературы опубликована до 2011 г.

В разделе «Материалы и методы исследования» приводятся данные о количестве проанализированных историй болезни (73247) и методах анализа клинико-морфологических форм новообразований молочной железы кошек Ростовской области. Для проведения проспективных исследований, целью которых было определение ряда молекулярно-генетических и биохимических показателей, в работе комплексно обследовано 30 животных с заболеваниями молочных желез и 10 здоровых кошек. Подробно описаны методы анализа транскрипции генов в тканях новообразований больных животных и в ткани здоровых молочных желез, методы определения активности аденозиндезаминазы и содержания полиаминов в крови кошек.

Указанные объемы как ретроспективных, так и проспективных исследований, а также использованные в работе методы (в т.ч. корректные методы статистического анализа), обширный фактический материал позволяют прийти к заключению о достаточно высоком методическом уровне исследования и проработанности поставленных вопросов. Все использованные методы современны, информативны и адекватны поставленным задачам.



В разделе «Результаты исследований и их обсуждение» содержатся данные, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования.

В первом подразделе представлены данные о частоте встречаемости в популяции домашних кошек Ростовской области новообразований молочной железы и об их клинико-морфологических формах. На основании результатов гистологических исследований установлено, что вероятность злокачественности новообразований молочной железы у кошек составляет 87%, что соответствует данным, приведенным в некоторых литературных источниках. Это подтверждает соответствие выбранных методов анализа специфике фактического материала. Выявленная частота встречаемости злокачественных новообразований молочной железы у кошек является важной для организации своевременной диагностики в клинической практике.

Анализ уровня экспрессии гена *ADA* позволил установить его увеличение в тканях опухоли. При этом ферментативная активность аденозиндезаминазы в крови здоровых и больных животных достоверно не различалась. Автор обсуждает возможные причины этого кажущегося несоответствия и задается вопросом, что первично, является ли увеличение экспрессии гена *ADA* следствием перерождения тканей. Интересно, что согласно представленным данным (таблица 13), при инвазивной неспецифической низкодифференцированной карциноме активность АДА в крови статистически значимо выше (на 36-45 %), чем при высокодифференцированной и умереннодифференцированной карциноме. К сожалению, автор не обсуждает этот факт в своей работе.

Отдельного внимания заслуживают данные о содержании полиаминов в крови кошек с новообразованиями молочной железы. Показано, что у больных животных происходит увеличение уровня путресцина и спермина и понижение уровня спермидина. Важно отметить, что при онкологии в тканях больного животного увеличивается содержание различных ацетильных производных полиаминов, особенно, спермидина. Это приводит к снижению



содержания спермидина, что, в свою очередь, негативно сказывается на процессе аутофагии. В то же время не совсем понятно, что является первичным в данном процессе – увеличение уровня полиаминов или малигнизация, а также зависимость уровня полиаминов от злокачественности опухоли.

Эти возникающие вопросы могут явиться стимулом для дальнейших научных изысканий автора.

Очень интересными являются результаты проведенного корреляционного анализа уровня экспрессии гена *АДА* с основными клинικο-морфологическими параметрами. Установлено, что экспрессия гена *АДА* коррелирует с размером опухоли, возрастом животного, активностью *АДА* и содержанием полиаминов в крови. Наиболее чувствительным показателем оказался индекс отношения активности *АДА* в плазме крови к содержанию спермина в крови животных. Не меньший интерес на наш взгляд представляет соотношение спермидин / путресцин, разнонаправленно изменяющееся при доброкачественных и злокачественных поражениях молочных желез.

Следует отметить, что при обсуждении собственных результатов диссертантом использованы литературные данные, опубликованные в основном в последние годы (2017-2020 гг.).

В разделе «Заключение» автор подытоживает полученные данные, проводит их сопоставление и обсуждение с имеющимися в литературе сведениями. Сопоставление данных, полученных на кошках, с результатами изучения злокачественных новообразований у человека, может расцениваться как оправданное, поскольку исследования у домашних и лабораторных животных немногочисленны и разрозненны.

Сформулированные в диссертации выводы, положения и практические рекомендации аргументированы, объективны и логически вытекают из анализа результатов исследования.



Диссертация и автореферат написаны и оформлены в соответствии с требованиями ВАК РФ.

**Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати.** По результатам диссертационной работы автором опубликовано 19 научных публикаций. Из них 4 работы опубликованы в изданиях, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденный ВАК Министерства образования и науки России, и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертаций по научной специальности (06.02.01) и отрасли науки (биологические): «Ветеринарная патология», «Ветеринария Кубани», «Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии». Две работы опубликованы в журнале, входящем в Международную базу Scopus. Опубликованные работы отражают основные результаты исследований, изложенные в диссертации.

Материалы диссертации широко апробированы, неоднократно докладывались и обсуждались на международных и региональных научных конференциях различного уровня.

**Замечания, вопросы и пожелания.** Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне, состоит из ретроспективной части, основанной на анализе более 70 тысяч историй болезней кошек, и достаточного по объему проспективного исследования, и не вызывает принципиальных возражений.

В качестве **замечаний** необходимо указать следующее:

1. В раздел статистической обработки диссертации и автореферата следовало вставить сведения о проведенном корреляционном анализе.
2. Поскольку в диссертации для определения значимости различий использованы в основном непараметрические критерии, в таблицах следовало представлять не только средние арифметические и их ошибки, но и значения медиан, нижних и верхних квартилей (Q25; Q75). Кроме того, следует говорить о значимости, а не достоверности различий.



3. В диссертации и в автореферате имеются не очень удачные фразы, нередко связанные с невыверенным переводом при цитировании зарубежных данных. Обнаружены неправильное название рисунка 59, несовпадение года публикации работы Marconato и Del Piero в тексте и списке литературы (2015 или 2005 г.), нет расшифровки некоторых сокращений. Также имеются немногочисленные опечатки, повторы фраз, в некоторых таблицах указаны не все п.
4. Материалы и методы исследования не относятся к разделу «Собственные исследования» и обычно выделяются в отдельную главу.
5. Непонятно зачем при корреляционном анализе всей выборки в таблицу включен параметр размер опухоли, ведь  $\frac{1}{4}$  группы составили контрольные животные, у которых опухоли быть не могло. Особенно странным этот параметр выглядит в таблице 21 – Корреляционный анализ в контрольной группе.

В порядке дискуссии хотелось бы задать несколько вопросов.

1. Каков, по вашему мнению, механизм увеличения уровня полиаминов при злокачественном поражении (как у животных, так и у людей)?
2. С чем связываете более выраженное увеличение экспрессии гена *АДА* у кошек с доброкачественными и опухолеподобными заболеваниями, чем при злокачественных опухолях молочной железы?
3. Из 26 кошек с РМЖ у 21 был протоковый рак, а у остальных – какой?

Замечания и возникшие вопросы не снижают научную ценность и практическую значимость диссертационной работы, вопросы носят дискуссионный характер и не влияют на положительную оценку. Следует еще раз подчеркнуть большой объем как ретроспективных, так и проспективных исследований, проведенных автором.


### **Заключение**

Диссертация Вакуленко Майи Юрьевны на тему: «Предикторы рака молочной железы у кошек» является завершенной научно-квалификационной работой, в ходе выполнения которой решена задача, имеющая существенное



значение для биологии, ветеринарной медицины и онкологии. Работа выполнена лично автором на современном методическом уровне исследований на актуальную тему на достаточном материале для обобщения и формирования выводов. Полученные результаты имеют теоретическое и практическое значение. По содержанию диссертация соответствует специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных и отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней от 24.09.2013 № 842», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Вакуленко Майя Юрьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных.


### Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России  Горошинская Ирина Александровна  
Дата 24.11.2021

Адрес: 344037, г. Ростов-на-Дону, 14 линия, 63  
Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
E-mail официального оппонента: [iagor17@mail.ru](mailto:iagor17@mail.ru)  
Тел. официального оппонента: 88632001000 доб.481; моб.: +79281757704

Подпись доктора биологических наук, профессора Горошинской И.А. заверяю.

Ученый секретарь ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России  
доктор биологических наук,  
доцент

 Дженкова Елена Алексеевна

