

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», член-корреспондент РАН, доктор ветеринарных наук, профессор

К.В. Премяшов

« 14 » _____ 2023 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на диссертационную работу Митенко Василисы Васильевны «Морфологические и генетические закономерности развития рака молочных желез у плотоядных», представленную в диссертационный совет 35.2.036.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.1. – Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология

1. Актуальность темы

Изучение многоступенчатых процессов канцерогенеза молочных желез у собак и кошек, связанных с продукцией новых белковых компонентов, нарушениями межклеточных взаимодействий и передачи разнообразной сигнальной информации между клеточными структурами, имеет большое научное и практическое значение в онкологии и патоморфологии. Наряду с этим, в ветеринарной практике всё шире используются молекулярно-генетические исследования для идентификации в опухолевых клетках геномной нестабильности, влияющей на канцерогенез и терапию животных с опухолевыми болезнями.

В настоящее время определено, что опухоли молочных желез являются гетерогенными болезнями с различным молекулярным взаимодействием эпителиального компонента и мезенхимального компонента. Проводимые научные изыскания в области изучения канцерогенеза, напрямую зависящие от морфологической, иммуногистохимической и молекулярно-генетической диагностики, существенно влияют на интегральную оценку данных болезней. Учитывая выше изложенную информацию, а также увеличивающуюся в последние годы долю онкологических болезней в общем спектре заболеваний, нельзя не признать актуальность и своевременность труда Митенко В.В.

Диссертационная работа Митенко В.В. представляет собой комплексное морфологическое исследование, результаты которого свидетельствуют об особенностях клеточного ландшафта, эпителиально-мезенхимального перехода, а также эктопической экспрессии рецептора фактора роста фибробластов в мезенхимальных клетках в злокачественных опухолях молочных желез у животных. Оценивая данный квалификационный труд,

следует заключить, что комплексное морфологическое исследование В.В. Митенко является крупным научным обобщением, вносящим существенный вклад в решение задач ветеринарной онкологии.

2. Новизна исследований и полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы состоит в том, что в ней выяснены особенности клеточного ландшафта, эпителиально-мезенхимального перехода, эктопической экспрессии рецептора фактора роста фибробластов в мезенхимальных клетках в злокачественных опухолях молочных желез у собак и кошек. В.В. Митенко впервые провела анализ встречаемости опухолей молочных желез по возрастному, породному и гендерному показателям у кошек и собак в г. Ставрополе. Диссертантом впервые установлены основные гистологические типы и морфологические особенности клеточного ландшафта в злокачественных опухолях молочных желез у плотоядных животных. В результате иммуногистохимических исследований были получены новые данные о процессе эпителиально-мезенхимального перехода, при котором происходит изменение цитоскелета эпителиальной клетки, потеря межклеточных контактов и обретение ими более пластичного и подвижного фибропластического типа. Диссертант установила в опухолях молочных желез у собак прозопластическую метаплазию миоэпителиальных клеток в сторону структурной организации в хрящевую или костную ткань. Автор впервые получила новые данные об экспрессии маркеров транскрипционного фактора нуклеолин/NCL, нуклеофозмин/NPM1, фибрилларин/FBL, участвующих в процессах биогенеза рибосом. Диссертант впервые представила сведения о белках промежуточных филаментов мезенхимального типа (виментин/vimentin, альфа гладкомышечный актин/ α -SMA), которые обеспечивают пластичность, сократимость и мобильность клеток. Также впервые представлены данные по белку эпителиального компонента (высокомолекулярный цитокератин/HMWCK), который участвует в поддержании основного цитоскелетного каркаса и межклеточной адгезии клеток. Автором впервые проведено молекулярно-генетическое исследование с помощью флюоресцентной *in situ* гибридизации на рецептор фактора роста фибробластов FGFR1.

3. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений

Научные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертационной работе Василисы Васильевны Митенко, объективно обоснованы и подтверждены значительным количеством фактического материала.

Диссертационные исследования были проведены на кафедре паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С.Н. Никольского, в Научно-диагностическом и лечебно-ветеринарном центре ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», а

также на базе ветеринарных клиник ИП Шаламова Е.В. «Колибри», ИП Заиченко И.В. «Ветеринарный центр им. Пирогова».

Объектом исследования послужили 200 животных разных возрастных групп и видовой принадлежности (собаки и кошки).

Диссертантом четко сформулирована цель исследования на основе анализа научной литературы. Для реализации цели было поставлено 4 задачи, решение которых потребовало выполнить значительный объем трудоёмких, сложных исследований, проведённых безукоризненно.

В своей работе Митенко В.В. применила различные традиционные и современные методы исследований – гистологические, иммуногистохимические, молекулярно-генетические. Каждый из этих методов, позволил получить новые данные и тем самым дополнил ранее полученные результаты исследований о механизмах канцерогенеза молочных желез у животных.

В результате исследований автором сформулированы и представлены обоснованные научные положения, выводы и рекомендации.

4. Значимость для науки и производства полученных соискателем результатов

Результаты исследований В.В. Митенко вносят новые данные о взаимодействии микроокружения эпителиального и стромального компонентов опухолей молочных желез у животных разных видов, экспрессии маркеров областей ядрышковых организаторов, белков промежуточных филаментов мезенхимального и эпителиального компонентов в опухолевых клетках, а также амплификации гена FGFR1 в клетках фибробластического дифферона в тканях молочных желез.

Полученные данные о взаимодействии эпителиального и стромального компонентов опухолей молочных желез у животных разных видов целесообразно применять при разработке новых классификаций в ветеринарной онкологии, при разработке новых методов диагностики и создании эффективных методов таргетной терапии. Материалы диссертации могут быть востребованы при составлении монографий, учебных и справочных пособий по возрастной, видовой, молекулярной, а также патологической морфологии животных различных видов.

5. Оценка содержания и оформления диссертации

Текст диссертации написан по общепринятой форме на 207 страницах и включает в себя следующие главы: введение 7 стр., обзор литературы 30 стр., материалы и методы 8 стр., результаты собственных исследований и их анализ 131 стр., заключение с выводами, практические предложения, а также рекомендации по перспективным направлениям дальнейшей разработки темы. Список литературы, использованной в процессе научного исследования, включает 245 источников, в том числе 202 источника зарубежных авторов.

Диссертация оформлена в соответствии с действующими требованиями, работа иллюстрирована 8 таблицами и 136 рисунками. Текст диссертации читается легко.

Во Введении автором обоснованы актуальность и степень разработанности темы, сформулирована цель, определены задачи, объект и предмет исследования, освещена научная новизна и ценность полученных результатов, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, достоверность полученных результатов. Также сообщено о внедрении результатов исследования, об апробации и публикации результатов исследования, представлены положения, выносимые на защиту.

Глава «Обзор литературы» состоит из 7 разделов. В них содержатся сведения из научной литературы по механизмам канцерогенеза и методам онкологической диагностики. Автором подробно обобщена информация по канцерогенезу и влиянию микроокружения на развитие злокачественных новообразований молочных желез. Диссертантом описаны основные этапы эпителиально-мезенхимального перехода и молекулярные механизмы, которые контролируют этот процесс. Представленная в этом разделе информация показывает, что диссертант, при изучении научной литературы аргументирует необходимость изучения основных этапов канцерогенеза молочных желез у собак и кошек.

В разделе «Материалы и методы исследования» Митенко В.В. указала, что исследования проводились на кафедре паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С.Н. Никольского, в Научно-диагностическом и лечебно-ветеринарном центре ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», а также на базе ветеринарных клиник ИП Шаламова Е.В. «Колибри», ИП Заиченко И.В. «Ветеринарный центр им. Пирогова».

Автором представлены методы определения изучаемых показателей. В процессе работы диссертант использовала гистологические, иммуногистохимические, молекулярно-генетические методы исследования. Используемые методы в совокупности позволили реализовать цель исследования и решить поставленные задачи, которые обеспечили получение новых данных по морфологии и патоморфологии молочных желез животных.

Глава «Собственные исследования» содержат результаты, которые получены соискателем в ходе проведения исследования и включает 5 разделов.

В первом разделе «Количественная характеристика взаимосвязи развития новообразований между двумя видами плотоядных» диссертант на основании исследований описала возрастные, породные и гендерные показатели встречаемости опухолей молочных желез у собак и кошек.

Второй раздел «Гистологическая характеристика опухолей молочных желез у плотоядных» содержит особенности клеточного ландшафта злокачественных опухолей молочных желез у животных. Митенко В.В. описаны различия между клеточным составом опухолей у разных животных.

Третий раздел «Экспрессия нуклеолярных белков и промежуточных филаментов мезенхимального и эпителиального типов в клетках опухолей молочных желез у кошек» содержит особенности экспрессии нуклеолярных белков для пролиферативной активности злокачественных клеток молочных желез у кошек. Митенко В.В. описан процесс эпителиально-мезенхимального

перехода с помощью паттернов промежуточных филаментов в клетках опухолей молочных желез у кошек.

Четвертый раздел «Экспрессия нуклеолярных белков и промежуточных филаментов мезенхимального и эпителиального типов в клетках опухолей молочных желез у собак» содержит особенности экспрессии нуклеолярных белков для пролиферативной активности злокачественных клеток молочных желез у собак. Митенко В. В. описан процесс эпителиально-мезенхимального перехода и прозопластической метаплазии в смешанных опухолях с помощью паттернов промежуточных филаментов.

Пятый раздел «Рецептор фактора роста фибробластов (FGFR1) и основная его биологическая роль в управлении эпителиального компонента молочных желез у плотоядных» содержит результаты флюоресцентной *in situ* гибридизации с меткой рецептора фактора роста фибробластов. Митенко В.В. описана эктопическая экспрессия рецептора в мезенхимальных клетках, которые с помощью паракринной регуляции влияют на эпителиальный компонент.

В главе «Заключение» Митенко В. В. на основании собственных исследований подводит итог своей научной квалификационной работы, приводит 8 выводов, которые соответствуют задачам, поставленным на разрешение при выполнении работы, и дает 4 практические предложения. Выводы в диссертационной работе сформированы, исходя из результатов проведенных исследований, аргументированы и убедительны. Практические предложения актуальны, они отражают основные положения диссертационной работы и носят в основном конкретный характер.

Яркой, превосходной частью диссертации являются рисунки, выполненные с гистологических препаратов. Рисунки дают возможность без труда убедиться в правильности диагностики, трактовки опухолевых процессов, и собственно в абсолютной достоверности результатов и выводов диссертации.

6. Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

По материалам исследований опубликована 17 научных работ, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе 3 статьи в изданиях, включенных в «Перечень Российских рецензируемых научных журналов и изданий», рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ («Иппология и ветеринария», «Известия Оренбургского государственного аграрного университета»), 1 научная работа, индексируемая в международной базе цитирования Scopus («Гены и клетки»). Получены 2 патента РФ на изобретения: «Способ флюоресцентной гибридизации *in situ* при применении ДНК-зонда FGFR1 у разных видов млекопитающих на цитологических препаратах» (№ 2755392 от 15.09.2021); «Способ флюоресцентной гибридизации *in situ* при применении ДНК-зонда с меткой FGFR1 у разных видов млекопитающих на гистологических препаратах» (№ 2777238 от 01.08.2022).

7. Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат изложен на 1,0 печатном листе и полностью соответствует содержанию диссертации. Выводы и практические предложения в обоих документах идентичны.

8. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы

Митенко Василисой Васильевной лично организовано и проведено диссертационное исследование, самостоятельно проведен анализ состояния изученности данного вопроса, сформулирована цель и задачи научного исследования, обоснован выбор объектов, материала и методов, проведен анализ полученных данных, сформулированы основные положения и выводы. Полученные результаты Митенко В.В. дополняют и углубляют сведения о канцерогенезе молочных желез у собак и кошек. Диссертационная работа написана и оформлена лично автором, опубликованные результаты подтверждают ее существенный личный вклад в решение поставленной научной задачи в области ветеринарной онкологии.

9. Конкретные рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

Рекомендации, предложенные автором, имеют как теоретическое значение по фундаментальным вопросам канцерогенеза молочных желез у животных, так и значение для практической деятельности ветеринарных специалистов в разработке диагностики и эффективной тактики таргетного лечения животных с данным видом патологии.

Учитывая теоретическую значимость работы, результаты диссертации также могут быть использованы при проведении научных исследований, в учебном процессе вузов и колледжей биологического профиля, а также при составлении монографий, учебных и справочных пособий по канцерогенезу молочных желез у собак и кошек.

10. Замечания, вопросы и пожелания по диссертации

В целом принципиальных возражений и замечаний по диссертационной работе Митенко В. В. не возникло. Есть пожелание к автору ответить на несколько вопросов.

1. Среди диагностированных опухолей Вы выделили тубулярную аденокарциному и тубулярную карциному? В чём, на Ваш взгляд, их различие?

Судя по рисункам 9, 11, 12, 13, 14, поименованным как тубулярная карцинома, опухолевые клетки на рисунках по виду, комплектации и расположению следовало бы отнести к железистым. Поскольку тубулярная карцинома выполнена железистыми клетками, то, очевидно, её надо именовать аденокарциномой.

Если Вы считаете опухолевые клетки в подобных срезах не железистыми, то необходимо, или хотя бы, желательнее, их вид отобразить в названии, к примеру, тубулярная плоскоклеточная карцинома или какая-либо другая.

2. Тот же подход, что и в 1 вопросе. В чём, на Ваш взгляд, различие опухолей под Вашими формулировками 1) «инвазивный рак» и 2) «инвазивный папиллярный рак»? Если второй инвазивный рак - папиллярный, то какой же первый инвазивный рак?

3. Тот же подход, что и во 2 вопросе? В чём, на Ваш взгляд, различие опухолей под Вашими формулировками 1) «аденокарцинома» и 2) «тубулярная аденокарцинома»? Если вторая аденокарцинома тубулярная, то какая же первая аденокарцинома?

4. Рисунок 4, стр. 60. «Аденокарцинома (G2). В ней клетки плоскоклеточного типа».

Не правильнее было бы назвать эту опухоль аденоидно-плоскоклеточная карцинома?

5. Рисунок 20, стр. 74. «Папиллярная карцинома с плоскоклеточной дифференцировкой».

Может ли быть папиллярная карцинома не с плоскоклеточной, а с какой-либо иной дифференцировкой?

6. Рисунок 38 – «Плоскоклеточный рак (G3). Метаплазия в плоскоклеточный». Поясните смысл метаплазии плоскоклеточного рака в плоскоклеточный.

7. Фрагмент диссертации, 1-ый абзац, стр. 4 и фрагмент автореферата, 1-ый абзац, стр. 3:

«На сегодняшний день, согласно отчету Европейской федерации производителей зоотоваров (FEDIAF), самая большая популяция животных-компаньонов зафиксирована в России и составляет 23 млн кошек и 17,5 млн собак, из которых более 20 млн занимают онкологические пациенты».

В диссертации и автореферате нет ссылки на источник данной информации. Исходя из цифровых данных этого утверждения, половина кошек и собак-компаньонов являются онкологическими больными.

Из какого литературного или сетевого источника взята данная крайне важная информация?

Вопросы носят дискуссионный и уточняющий характер и не влияют на общую положительную оценку диссертации.

11. Заключение

Диссертация Митенко Василисы Васильевны «Морфологические и генетические закономерности развития рака молочных желез у плотоядных» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных исследований, содержится решение задачи в области ветеринарии по изучению канцерогенеза молочных желез у собак и кошек. Диссертационная работа выполнена самостоятельно и соответствует

требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Митенко Василиса Васильевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.1. – Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

Отзыв обсужден и одобрен на расширенном заседании кафедры патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (протокол № 8 от 10 мая 2023 года).

Заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», доктор ветеринарных наук, профессор

Кудряшов Анатолий Алексеевич

Адрес организации: Россия, 196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5; ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»; тел. 8 (812) 388-36-31; факс 8 (812) 388-36-31; secretary@spbguvm.ru

