

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Кочевалиной Марины Юрьевны

**«ИЗМЕНЕНИЯ ЗАПАХА ИНДИВИДА, СВЯЗАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ
ПЕРЕВИТОЙ ГЕПАТОКАРЦИНОМЫ»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальностям

1.5.8. – Математическая биология, биоинформация и

1.5.5. Физиология человека и животных

Злокачественные новообразования являются одной из наиболее распространенных причин смерти людей в мире, причем по мере развития медицины в других областях и увеличения длительности жизни человека вклад онкологических заболеваний все увеличивается. Развитие новых подходов к лечению дает положительные результаты и сейчас ясно, что принципиальным моментом, часто определяющим эффективность лечения, является раннее выявление болезни. Поэтому разработка новых подходов, обеспечивающих раннюю и по возможности малоинвазивную диагностику онкологических заболеваний – это актуальнейшая задача современной медицины с практической точки зрения, а также задача, представляющая огромный научный интерес для таких областей, как экспериментальная и молекулярная онкология, клеточная биология, физиология человека и животных. Известно, что в процессе развития опухоли сильно изменяется метаболизм заболевшего, активируются новые сигнальные пути, меняется экспрессия многих белков. Это неизменно должно приводить к существенному изменению обменных процессов и, как следствие, изменению спектра летучих органических соединений (ЛОС), выделяемым этим больным. Однако попытки выделить надежные летучие биомаркеры для диагностики злокачественных заболеваний пока потерпели неудачу. Во всех выделениях человека очень много ЛОС, например, в выдыхаемом воздухе их насчитывается более трех тысяч. На состав

ЛОС влияют множество факторов: пол, возраст, эмоциональное состояние, привычки (курение, диета и др.), принимаемые медикаменты и многие другие, поэтому выделение факторов, связанных именно с болезнью представляется сложной задачей. Авторы настоящей работы подошли к решению сложностей, возникающих при детектировании ЛОС очень остроумно. Проблему разнообразия индивидуальных запахов, связанного с разным образом жизни, диет, хронических заболеваний и т.д. они решили, выбрав в качестве экспериментальных объектов («унифицированных пациентов») линейных мышей одного пола и возраста, содержащихся в абсолютно идентичных условиях. Этот подход позволил минимизировать различия спектра ЛОС, не связанных с исследуемым заболеванием. А в качестве анализаторов выделяемых ЛОС авторы предложили использовать животных-макросматиков для сравнения запахов здоровых и больных животных и получения подтверждения того, что запахи различны, и что эти различия связаны с развитием заболевания. В работе использовали собак и мышей. Обонятельная система этих животных очень чувствительна, она содержит более 1000 активных обонятельных рецепторов. Эти животные постоянно используют обоняние для решения повседневных поведенческих задач, и одной из таких задач является различие больного и здорового животных. От животных нельзя получить информацию о составе запаховой смеси, но животные могут определить запах, связанный с теми или иными особенностями организма, в том случае если этот запах существует, например, отличить запах прогрессирующей опухоли. По реакции животного при правильной постановке эксперимента исследователь может судить о схожести или различии спектра ЛОС в исследуемых пробах. С помощью этих двух принципиальных подходов авторы решали основную поставленную цель настоящего исследования, которая заключалась в том, чтобы показать, что злокачественная опухоль гепатокарцинома с самых ранних стадий развития влияет на формирование специфического комплекса ЛОС у больных животных. Следовательно, развитие этой опухоли может быть детектировано, начиная с самых ранних

этапов с помощью подходящих анализаторов, в данном случае животных-микросматиков.

Общая характеристика диссертации. Диссертация изложена на 173 страницах, содержит 32 рисунка и 18 таблиц и построена по классическому образцу, включает в себя следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы исследования, Результаты и обсуждение, Заключение, Выводы, Список сокращений и условных обозначений и Список литературы. Надо отметить, что автор столкнулся с очень непростой задачей, поскольку для выполнения целей исследования необходимо было проанализировать и соотнести очень разные направления биологической науки – теория формирования комплекса ЛОС у человека и изменения этого комплекса под влиянием условий, анализ основных характеристик и закономерностей опухолевой прогрессии и анализ процессов, которые могут влиять на изменение спектра ЛОС при развитии опухоли, оценку поведенческих реакций животных. В Обзоре литературы автор дает представление обо всех этих очень разнообразных темах. Автор подробно останавливается на понятиях формирования индивидуального запаха, рассматривает факторы, влияющие на формирование спектра ЛОС, приводит современные данные о влиянии различных патологических состояний на формирование запахового образа. Далее подробно рассмотрены особенности развития злокачественных опухолей и проанализированы возможные причины формирования паттерна ЛОС, характерного для развития опухолей. Объяснены и обоснованы выбор линейных мышей в качестве «пациентов» и животных-макросматиков в качестве анализаторов в экспериментах с детекцией специфического паттерна ЛОС. В разделе «Материалы и методы исследования» подробно описаны методические подходы, использованные при приготовлении образцов для исследования. Производит очень хорошее впечатление продуманность экспериментов и обилие контролей, что позволяет однозначно толковать полученные результаты. Так же подробно описаны подходы к работе с животными-биосенсорами, обсуждены причины возникновения возможных

ошибок и выполнены все условия для избегания этих ошибок. Собран огромный материал, который проанализирован очень тщательно. Особым достоинством данной работы является создание и использование специализированной базы данных Odor of Disease (ODD), позволяющей обобщить и систематизировать огромный материал, полученный в экспериментах, а так же формулировать новые вопросы ко всей совокупности данных и получать на них ответы. Благодаря работе с этой базой данных удалось выявить несколько абсолютно новых фактов – зависимость спектра ЛОС от возраста животных или от степени их травмированности.

Описание полученных результатов совмещено с обсуждением, что кажется вполне обоснованным. Автор сразу сопоставляет полученные результаты с опубликованными в литературе данными, и поэтому хорошо видно, какой вклад в развитие области вносит настоящая работа. Впервые было показано, что развитие гепатокарциномы сопровождается изменением комплекса ЛОС, что было детектировано с помощью двух различных групп животных-сенсоров (собаки и мыши). Очень интересные результаты получены при анализе изменения спектра летучих органических соединений мочи на разных стадиях развития опухоли. Особое значение имеет сопоставление гистологической картины развития опухоли и способности животных-макросматиков отличить комплекс ЛОС больных животных. То, что уже на стадии 4 дня животные с высокой вероятностью отличали пробы больных животных, и именно на этих сроках было показано увеличение митозов раковых клеток говорит о том, что комплекс ЛОС меняется именно от активации опухолевого роста, а не от накопления злокачественных клеток. Несомненным достоинством этой работы является постановка большого количества контрольных опытов, позволивших отделить влияние многих процессов, обычно сопровождающих заболевания, таких как воспаление, иммунный ответ, стресс. Разработанная база данных позволила решить несколько дополнительных задач. Впервые показано влияние травмы от инъекции на изменение спектра ЛОС, проведен анализ влияния возраста мышей на поиск собаками-биосенсорами образцов мочи модельных

мышей с перевитой гепатокарциномой. Показано, что возраст свыше 4-х месяцев затрудняет поиск, собаки начинают путать больных и контрольных животных. Из этого следует, что спектр ЛОС, выделяемый мышами с развивающейся опухолью, сходен со спектром ЛОС стареющих особей. Анализ образцов с помощью базы данных позволил показать, что при правильном хранении (в морозильной камере) пробы не теряют своих качеств до 12 месяцев. Таким образом, доказано, что использование животных для диагностики ранних стадий онкологических имеет определенные перспективы. Кроме того, опираясь на опыт и результаты этой работы можно попробовать выделить набор или комплекс ЛОС, который можно зарегистрировать специализированными приборами, и это было бы существенным прорывом в развитии ранней малоинвазивной диагностики опухолей. Другим существенным результатом, следующим из этой работы является факт, что даже самые начальные этапы опухолевого роста стимулируют существенные изменения обмена веществ, что подтверждается изменением комплекса ЛОС. Исследование таких первичных обменных изменений, по моему мнению, может дать очень существенные результаты для понимания механизмов опухолевой прогрессии. Таким образом, эта работа открывает новые перспективы в исследовании механизмов, регулирующих развитие злокачественных заболеваний и поиску подходов борьбы с ними.

При чтении работы возникает некоторое количество замечаний:

1. Основным замечанием является отсутствие фотографий первичных результатов по изменению гистологии в месте перевивки опухолевого материала и контрольной ткани печени. Это очень важный и интересный момент и при представлении материала просто описаний гистологических изменений не достаточно. Тем более эти результаты вынесены в отдельный вывод.
2. На графике изменения массы опухоли в первые дни после перевивки практически не видно уменьшения массы (она уже в день 1 близка к 0). Как измеряли массу опухолевой ткани в первые дни после перевивки?

3. Неудачная формулировка 5 вывода: были получены принципиально новые результаты не "о возрасте модельного животного и количестве полученных им травм, описанные выше" , а о том, что эти факторы влияют на изменение спектра ЛОС .

Сделанные замечания не влияют на общий уровень представленной диссертации и не умаляют ее достоинств. Выводы обоснованы и отражают полученные результаты. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в журналах, индексируемых в базах данных ВАК, Web of Science и Scopus. Результаты работы были доложены на Российских и международных конференциях и представлены в 8 тезисах отечественных и международных конференций.

Автореферат достаточно полно отражает объем и основное содержание работы.

Заключение

Диссертационная работа Кочевалиной Марины Юрьевны является цельной и законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение ряда задач, имеющих большое практическое и теоретическое значение для медицины, экспериментальной и молекулярной онкологии, физиологии человека и животных. Создана специализированная реляционная база данных, позволяющая анализировать факторы, потенциально влияющие на результат экспериментов. Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, соответствует всем критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям и соответствует специальностям 1.5.8. – Математическая биология, биоинформация и 1.5.5. Физиология человека и животных.

По актуальности, научной новизне и практической значимости работа полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24

сентября 2013 года № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор Кочевалина Марина Юрьевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.8. – Математическая биология, биоинформация и 1.5.5. Физиология человека и животных.

Официальный оппонент

Ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор биологических наук


Александрова Антонина Юрьевна

6 июня 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24

Телефон: +7 (499) 3235311

E-mail: a.alexandrova@ronc.ru

Подпись сотрудника НИИ канцерогенеза
ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина"
Александровой А.Ю. удостоверяю:
ученый секретарь, к.б.н.




Гудкова М.В