

Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
Институт проблем экологии и
эволюции им А.Н. Северцова
Российской академии наук
(ИПЭЭ РАН)
119071, Москва, Ленинский пр-т, 33



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института проблем экологии
и эволюции им А.Н. Северцова
Российской академии наук,
член-корреспондент РАН

С.В. Найденко
1 июня 2023 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

На диссертационную работу

Кочевалиной Марины Юрьевны на тему

«Изменения запаха индивида, связанные с развитием перевитой гепатокарциномы»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальностям 1.5.8. – Математическая биология и биоинформатика 1.5.5. -

Физиология человека и животных

Актуальность темы исследования. Разработка методов ранней диагностики онкологических заболеваний одно из наиболее важных направлений в современной медицине. Чем раньше поставлен диагноз заболевания, тем лучше прогноз его излечения. Применение известных биомаркеров онкологических заболеваний пока недостаточно эффективно из-за их низкой специфичности. Поэтому развитие направлений, позволяющих улучшить раннюю диагностику, является актуальным и перспективным. Автор развивает подходы, связанные с анализом состава летучих органических соединений (ЛОС) выделение которых сопутствует развитию онкологического заболевания.

Весьма перспективным является использование в качестве модели “унифицированных пациентов” - линейных мышей, генетические и другие различия между которыми существенно меньше, чем различия между людьми. Автор предлагает использовать мышей, выведенных для исследования механизмов развития опухолевых процессов на основе перевиваемых опухолей. Такая методика позволяет синхронизировать

развитие опухоли у экспериментальных животных и определять изменения в спектре ЛОС на разных стадиях развития болезни.

Для успешной ранней диагностики необходимо иметь инструменты для сравнения запаховых образцов, выделяемых больными и здоровыми организмами. Автор считает, что использование животных-макросматиков с успехом позволит решать задачу сравнения запаховых смесей и выделения компонентов, связанных с болезнью, и предполагает использовать в качестве биосенсоров ЛОС собак и мышей.

Развиваемые автором подходы предполагают создание логической модели в виде базы данных, ориентированной на изучение влияния различных факторов, что позволит формализовать различные переменные, которые могут иметь особое значение для биосенсоров.

Структура работы. Диссертация изложена на 172 страницах машинописного текста и содержит следующие разделы: введение; обзор литературы материалы и методы исследования, результаты и обсуждение, заключение и выводы. Диссертация включает 32 рисунка и 18 таблиц. В конце работы дан список литературы, содержащий 378 ссылок.

Обзор литературы, представленный в **главе 1**, разделен на четыре подраздела. В первом подразделе рассматриваются современные представления о формировании запахового образа индивида и влияния болезни на запах индивида. Во втором подразделе описаны особенности развития злокачественной опухоли и их связь с формированием специфического паттерна летучих органических соединений. В третьем подразделе рассматривается использование модельных животных, конкретно мышьяная модель рака и обзор экспериментов с животными макросматиками. Последняя часть обзора посвящена описанию специализированных баз данных для хранения и обработки информации, полученной в биологических экспериментах.

Во **второй главе** традиционно представлены материалы и методы исследования. В первом подразделе обосновывается выбор экспериментальной модели опухоли, в качестве которой использовали - самцов гибридных мышей BDF1-f1 (DBA2 x C57Bl/6). Эти биомодели использовались для исследования механизмов развития опухолевых процессов и оценки эффективности противоопухолевых средств на основе перевиваемых опухолей. Также представлена схема деления мышей моделей на разные группы и варианты сбора образцов.

Во втором подразделе описаны схемы экспериментов с двумя группами биосенсоров - мыши и собаки. Подробно описан метод «привыкания-генерализации», используемый при работе с мышьями. Метод основан на спонтанных реакциях мышьями при предъявлении

запаховых раздражителей, метод был признан эффективным и применялся многими исследователями. В качестве биосенсора использовались также специально обученные собаки. Собаки были обучены методу поиска «выбор по подобию», который применяется в научных исследованиях и в криминалистической одорологии.

В третьем подразделе описываются подходы к созданию специализированной базы данных Odor of disease (ODD). База позволяет провести многофакторный анализ формирования специфического паттерна ЛОС.

В главе 3 представлены результаты и их обсуждение. Обсуждение результатов не выделено в отдельный раздел, а представлено после описания каждого из экспериментов. Это делает структуру работы не совсем стандартной, однако представляется логичным, так как эксперименты существенно отличаются друг от друга по набору методов и экспериментальным животным.

Основные научные результаты и их значимость для науки и практики. Основные результаты диссертации представлены в Главе 3.

В первом подразделе проведен анализ изменений перивитой ткани опухоли. Было показано, что масса опухоли уменьшалась в первые трое суток после инъекции ткани развивающейся опухоли. На 4е сутки масса опухолевой ткани начинала расти. К 6-м суткам масса перивитой опухолевой ткани в несколько раз превышала свою изначальную массу и продолжала увеличиваться. Результаты важны для дальнейшего использования модели перививаемых мышей для исследований течения, диагностики и лечения опухолевых заболеваний

Большое внимание уделено автором контрольным экспериментам – было определено, как влияет на спектр ЛОС процессы не связанные с развитием опухоли (подраздел два), в том числе такого фактора, как процесс инъекции физиологического раствора или здоровой печени. Было показано, что мыши-сенсоры отличают по запаху образцы одного и того же самца до и после введения физиологического раствора. Это говорит о том, что паттерн ЛОС мочи содержит информацию о травме, стрессе и воспалительном процессе, иммунной реакции организма, которые сопутствуют даже небольшой травме. Также было показано, что возраст животного также оказывает влияние на спектр ЛОС, выделяемый организмом. Эти данные позволят отделить неспецифические факторы, влияющие на паттерны ЛОС от изменений ЛОС, связанных с конкретным канцерогенным заболеванием.

В подразделе три анализируется изменение спектра летучих органических соединений мочи больных животных с перивитой гепатокарциномой с использованием

метода сравнения образцов с помощью животных макросматиков (мышей и собак). Для определения вклада перевитой гепатокарциномы в спектр ЛОС мочи больных животных сравнивались запаховые образцы мочи модельных мышей с перевитой гепатокарциномой с образцами интактных здоровых самцов. Результаты экспериментов показали, что биосенсоры, как мыши, так и собаки, достоверно отличают по запаху образцы выделений животных с перевитой опухолевой тканью от образцов выделений интактных животных. Собаки выделяли больных животных как по образцам мочи, так и по образцам фекалий. Были проведены контрольные серии экспериментов по различению макросматиками выделений больных мышей и мышей с разными контрольными инъекциями. Животные сенсоры уверенно отличали ЛОС от этих двух групп животных. Эти данные вносят существенный вклад в развитие методов использования животных биосенсоров для диагностики опухолевых заболеваний как у модельных животных, так и у человека.

В ходе работы была создана специализированная база данных **Odor of disease (ODD)**. Получаемые данные были структурированы таким образом, что ODD позволяла проводить многофакторный анализ. Созданная база данных объединила информацию о мышах — моделях заболевания, всех собранных пробах мочи, животных-сенсорах, условиях и результатах проведения экспериментов. Созданная база данных позволяет, как формировать новые запросы к уже существующему архиву данных, так и добавлять данные, сравнивая ранее проведенные и новые эксперименты. Формулировка запросов к базе данных позволяет не только анализировать результаты проведенных экспериментов, но и получать принципиально новую информацию.

Научная новизна. Результаты, представленные в диссертации Кочевалиной Марины Юрьевны, обладают высокой степенью новизны.

Удалось создать на базе перевитой мышам гепатокарциномы модель, обладающую хорошо контролируемыми свойствами. Впервые на модели перевитой гепатокарциномы отработаны методы определения больных животных на основе анализа животными сенсорами (мышами и собаками) летучих органических соединений, связанных с развитием болезни. Выявлено, что животные сенсоры определяют спектры ЛОС, связанные со злокачественными ростом опухоли, и отличают их от сопутствующих незлокачественных процессов. На основании проведенных экспериментов была создана база данных, позволяющая проводить анализ влияния многих факторов на формирование комплекса ЛОС, так и на определение специфического комплекса ЛОС у больных животных.

Обоснованность и достоверность результатов и выводов. Обоснованность результатов данной работы следует из продуманного плана проведения экспериментов в сочетании с адекватным статистическим анализом. Результаты согласуются с данными, представленными другими исследователями, но тем не менее содержательны и новы. Результаты были представлены на большом количестве конференций, в том числе и международных и опубликованы в трех статьях, в том числе и международном журнале с квартилем Q1.

Полнота изложения материалов диссертации в печатных работах.

Основные положения и результаты диссертационного исследования изложены автором в трех статьях по теме диссертационной работы в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных научных результатов диссертации, и в 15 публикациях тезисов докладов международных и российских конференций. В опубликованных работах полностью изложен материал диссертации.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации.

Автореферат написан в соответствии с требованиями и полностью отражает содержание диссертации и научных публикаций. Положения, выносимые на защиту, также полностью раскрыты в автореферате.

Замечания.

Несмотря на высокий общий уровень работы, необходимо сформулировать ряд замечаний:

В разделе 3.1. «Изменения перевитой ткани опухоли и здоровой ткани печени» гистологические изменения, происходящие по дням развития опухоли подробно описаны в таблице, однако было бы значительно нагляднее проиллюстрировать несколькими фотографиями изменения, происходящие в тканях животного.

В разделе 3.2.4. «Влияние возраста модельных мышей на спектр летучих органических соединений» автор сообщает, что «в каждую возрастную группу попало не менее 550 самцов BDF контрольной группы и не менее 100 больных самцов». Не совсем понятно, почему автор точно не сообщает размеры групп экспериментальных животных.

В разделе 3.3.2. «Сравнение образцов больных животных и мышей с разными контрольными инъекциями» при сравнении количества реакций собак при определении образцов мочи мышей с гепатокарциномой на фоне контрольных образцов мочи мышей

после инъекции физиологического раствора ничего не сказано о достоверности различий количества реакций собак.

Все перечисленные замечания не подвергают сомнению достоверность полученных результатов и обоснованность выводов, сделанных в диссертации, и не снижают научную значимость работы.

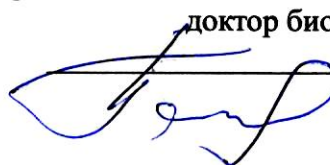
Заключение

Диссертационная работа Кочевалиной Марины Юрьевны на тему «Изменения запаха индивида, связанные с развитием перивитой гепатокарциномы», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой. Диссертационная работа Кочевалиной Марины Юрьевны полностью отвечает критериям пунктов 9—14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор диссертации, Кочевалина Марина Юрьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.8. — математическая биология, биоинформатика и 1.5.5. — физиология человека и животных.

Отзыв на диссертационную работу Кочевалиной Марины Юрьевны был заслушан, обсужден и одобрен на заседании научного семинара лаборатории сенсорных систем позвоночных ИПЭЭ РАН. Присутствовало на заседании 8 человек. Результаты голосования: «за» — 8 человек, «против» — нет, «воздержались» - нет (протокол заседания N1 от 25 мая 2023 г.). Основное направление научно-исследовательской работы лаборатории соответствует тематике диссертационной работы.

Отзыв подготовлен:

Главный научный сотрудник, заведующий лабораторией
«Сенсорных систем позвоночных» ИПЭЭ РАН,
доктор биологических наук
В.В. Попов



Подпись Попова В.В.
Заверяю, зав. канц. ИПЭЭ РАН Т. Став
" 01 " 06 2023 г.