

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО

«Чувашский государственный
университет имени И.Н. Ульянова»

А.Ю. Александров

11 20 19 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» на основании решения совместном заседании кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины, кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии.

Диссертация «Цитоархитектоника тимуса при экспериментальном канцерогенезе в условиях стресса» выполнена на кафедре нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова».

Котёлкина Анастасия Андреевна, 1990 года рождения, гражданство российское, окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» в 2013 году по специальности «Лечебное дело».

С 2015 по 2019 год проходила обучение в аспирантуре (заочная форма обучения) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» и освоила программу по направлению подготовки 30.06.01 Фундаментальная медицина, по направленности (профилю) 03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки).

По результату освоения программы подготовлена диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки) на тему «Цитоархитектоника тимуса при экспериментальном канцерогенезе в условиях стресса».

С 2013 года по настоящее время работает ассистентом кафедры нормальной

и топографической анатомии с оперативной хирургией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2019 г. федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова».

Научный руководитель – Меркулова Лариса Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова».

Тема диссертационного исследования была утверждена на заседании Ученого совета ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» протокол № 14 от 03.12.2015 приказом ректора № 1103ДОП от 14 декабря 2015 г.

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Цитоархитектоника тимуса при экспериментальном канцерогенезе в условиях стресса», представленного на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки), принято следующее заключение:

Диссертационная работа А.А. Котёлкиной на тему «Цитоархитектоника тимуса при экспериментальном канцерогенезе в условиях стресса», представляемая на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-исследовательской работой. Диссертация посвящена изучению морфофункционального состояния тимуса при экспериментальном канцерогенезе рака молочной железы, вызванном введением N-метил-N-нитрозомочевина, в условиях стресса и при сочетанном воздействии двух факторов. Исследование тимуса проведено с помощью иммуногистохимических, общегистологических, морфометрических и люминесцентно-гистохимических методов. Работа соответствует специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки).

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.

Данная научная работа представляет личный труд Котёлкиной Анастасии Андреевны. Выбор моделей и проведение экспериментов осуществлены лично автором. Автор провел все эксперименты, забор исследуемого материала, изготовление гистологических препаратов, статистическую обработку и анализ данных собственных результатов. При написании главы по обзору литературы автором проведены сбор и анализ результатов исследований в работах отечественных и зарубежных авторов. Данные диссертационного исследования опубликованы в личных печатных работах и в соавторстве. Все микрофотографии, рисунки и графики, представленные в диссертационном исследовании, выполнены автором.

В результате проведенного исследования автором:

- установлено, что введение канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины приводит к увеличению толщины коркового и площади мозгового вещества долек тимуса через 1 месяц наблюдения, через 3 месяца отмечается достоверное снижение этих показателей и замещение паренхимы органа соединительной и жировой тканями. Уровень биогенных аминов в люминесцирующих структурах тимуса изменяется волнообразно, максимальное содержание гистамина и серотонина регистрируется через 3 месяца, катехоламинов – через 2 месяца наблюдения. Отмечается достоверный рост соотношения (СТ+ГСТ)/КА через 3 месяца, особенно в лимфоцитах коркового вещества.
- показано, что воздействие водно-иммобилизационного стресса также вызывает увеличение площади мозгового и толщины коркового слоя долек – максимально через 2 месяца наблюдения. Уровень биогенных аминов в люминесцирующих клетках достоверно снижается. Соотношение (СТ+ГСТ)/КА в разных структурах долек тимуса изменяется неоднозначно.
- выявлено, что при сочетанном воздействии двух факторов особенности изменений определяются уже через 2 месяца: снижение массы тимуса, появление жировой ткани в соединительнотканых прослойках органа с последующим замещением паренхимы тимуса. Содержание всех биогенных аминов снижается через 1 и 3 месяца наблюдений. Только уровень гистамина возрастает через 2 месяца. Показатели соотношения (СТ+ГСТ)/КА изменяются волнообразно, особенно выражено в тимоцитах коркового вещества и тучных клетках.
- зарегистрировано, что введение канцерогена приводит к количественному изменению клеточных элементов в тимусной дольке: через 1 месяц наблюдения отмечается снижение S-100⁺ дендритных клеток и CD68⁺ макрофагов на фоне достоверного увеличения CD3⁺ лимфоцитов коркового и мозгового веществ.

Через 3 месяца - значительный рост дендритных клеток, макрофагов и эпителиоцитов. При сочетанном воздействии двух факторов выраженный клеточный дисбаланс регистрируется уже через 2 месяца: увеличение S-100⁺ клеток (в 1,9 раза), эпителиальных клеток (в 8,8 раз), а через 3 месяца – еще и увеличение Bcl-2⁺ клеток (более, чем в 11 раз).

- представлена количественная и качественная характеристика тучноклеточной популяции в исследуемых экспериментальных группах. Обнаружено, что на воздействие канцерогена и сочетанного действия двух факторов в тимусе происходит увеличение числа тучных клеток (в 1,5 раза) с преобладанием дегранулированных и полностью опустошенных форм в соединительнотканых септах. Индекс дегрануляции увеличивается в 2 раза. При стрессовом воздействии общее количество тучных клеток снижается (в 2 и более раз), преобладают дегранулированные формы.

- показано, что цитоморфологические изменения долек тимуса отмечены во всех трех группах эксперимента, но при сочетанном воздействии канцерогена и стресса эти изменения более выражены и наступают уже через 1 месяц наблюдения, нарастая к 3 месяцам. Это проявляется снижением массы тимуса, уменьшением количества CD3⁺ лимфоцитов в корковом веществе, снижением S-100⁺ клеток, Bcl-2⁺, эпителиальных клеток, значительным повышением уровня гистамина в лимфоцитах коркового и мозгового веществ, опустошением коркового слоя на фоне замещения жировой тканью. Все это свидетельствует о развитии признаков акцидентальной инволюции тимуса.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Диссертация написана на высоком методическом уровне в результате кропотливого изучения, систематизации, анализа и обобщения достаточного исследуемого материала – 168 крыс. Научные положения, выводы и рекомендации работы сформулированы автором на основании проведения исследования в течение нескольких лет с применением современных иммуногистохимических, общегистологических, лиминесцентно-гистохимических и статистических методов. В работе широко применена статистическая обработка полученных данных. Статистическая достоверность полученных цифровых данных проведена с помощью программы Statistica 8.0. Для описания данных использовались такие стандартные статистические показатели как среднее (M), стандартная ошибка среднего (SE), среднеквадратичное отклонение (σ), минимальное и максимальное значения (min - max). При определении действия двух факторов для сравнения средних значений исследуемых выборок был проведен двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA), а последующее множественное сравнение проведено с помощью LSD-критерия Фишера.

Все это дает основание считать, что выводы основываются на достоверных результатах, аргументированы и убедительны.

Научная новизна работы заключается в том, что впервые в динамике зафиксированы морфологические изменения в структуре тимуса при введении N-метил-N-нитрозомочевины, индуцирующей рак молочной железы, и сочетанном воздействии канцерогена и водно-иммобилизационного стресса. Это сопровождается уменьшением массы тимуса, изменением формы тимических долек, заполнением междольковых промежутков жировой тканью, что развивается раньше при сочетанном воздействии факторов. Установлено, что введение N-метил-N-нитрозомочевины и сочетанное воздействие двух факторов вызывает рост числа тучных клеток за счет дегранулированных и полностью опустошенных форм на всех сроках исследования. Стресс приводит к снижению общего количества тучных клеток, при этом большую часть составляют дегранулированные формы. Все воздействия в изученных моделях вызывают разнонаправленные изменения числа S-100⁺ клеток, CD3⁺, CD68⁺, Bcl-2⁺, Pan-cytokeratin⁺ клеток. Показано волнообразное изменение уровня гистамина. При изолированном введении канцерогена его увеличение происходит через 1 и 3 месяца, снижение - через 2 месяца. При сочетанном воздействии двух факторов, напротив, уровень гистамина через 1 и 3 месяца незначительно снижается, через 2 месяца - возрастает. Уровень серотонина и катехоламинов остается сниженным на всех сроках исследования. В работе установлено, что соотношение (серотонин + гистамин)/катехоламины, позволяющее косвенно судить о функциональной активности клеток, изменяется волнообразно. Через 1 и 3 месяца после изолированного введения канцерогена наблюдается увеличение этого показателя. Через 2 месяца, напротив, величина соотношения снижается во всех структурах, кроме тимоцитов коркового вещества. При сочетанном воздействии двух факторов наблюдается увеличение этого показателя в тимоцитах коркового вещества, в остальных структурах его значение изменяется неоднозначно.

Практическая значимость работы заключается в том, что полученными результатами исследования дополнен механизм развития инволюции тимуса при экспериментальном канцерогенезе, индуцирующем рак молочной железы, на фоне стрессового воздействия и сочетанного влияния двух факторов. Работа, безусловно, представляет интерес и несет научную пользу для фундаментальной и практической медицины.

Ценность научных работ соискателя

Работа затрагивает важнейшую проблему современной медицины и иммунологии – выяснение механизмов функционирования иммунной системы на фоне развивающейся опухоли и влияния стресса на изменения в тимусе и развивающуюся опухоль.

Научная специальность и отрасль науки, которым соответствует диссертация

03.03.04 - Клеточная биология, гистология, цитология (медицинские науки). Область исследований: исследование адаптации тканевых элементов к действию различных биологических, физических, химических и других факторов.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. По теме диссертации опубликованы 11 научных работ, из них 2 работы опубликованы в ведущих рецензируемых российских научных журналах из перечня ВАК, рекомендованных для публикаций основных результатов диссертаций на соискание учёных степеней.

Публикации в изданиях, рецензируемых ВАК:

1. Котёлкина А.А. Клеточный состав тимуса крыс при сочетанном воздействии канцерогена и стресса / А.А. Котёлкина, О.Ю. Кострова, Л.М. Меркулова, Г.Ю. Стручко, М.Н. Михайлова // Журнал анатомии и гистопатологии. - 2019. – Т.8. - №2. – С.47-53.

2. Котёлкина А.А. Морфология акцидентальной инволюции тимуса в экспериментальном канцерогенезе /А.А. Котёлкина, Л.М. Меркулова, О.Ю. Кострова, Г.Ю. Стручко // Морфологические ведомости.- 2019. – Т.27. – Вып. 1. – С. 30-34.

Публикации в других изданиях:

1. Котёлкина А.А. Тучные клетки тимуса на фоне введения канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины / А.А. Котёлкина, Л.М. Меркулова, Г.Ю. Стручко, О.Ю. Кострова, Е.В. Москвичев, М.Н. Михайлова // Спешите делать добро: материалы межрегион. Науч.-практ. конф., посв. памяти заведующего кафедрой госпитальной терапии №1 д-ра мед.наук, проф. Владимира Николаевича Сапёрова. – Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2016. - С.287-292.

2. Котёлкина А.А. Исследование биоаминсодержащих структур тимуса самок крыс после введения канцерогена, вызывающего развитие опухоли молочной железы / Л.М. Меркулова, А.А. Котёлкина, О.Ю. Кострова, Е.Г. Драндрова // Современные проблемы медицины и естественных наук: сборник статей Международной научной конференции/ Мар. гос. ун-т. – Йошкар-Ола, 2016. - Вып. 5.- С.12-14.

3. Котёлкина А.А. Морфофункциональные изменения надпочечников и тимуса у крыс при введении канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина / О.Ю. Кострова, Л.М. Меркулова, А.А. Котёлкина, И.С. Стоменская, Г.Ю. Стручко, М.Н. Михайлова // Acta medica Eurasica. - 2016. - №3. - С.49-52. <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2016/3/8/>

4. Котёлкина А.А. Нейроиммуноэндокринная реакция на развитие опухоли молочной железы при хроническом стрессе / М.Н. Михайлова, Л.М. Меркулова, Г.Ю. Стручко, О.Ю. Кострова, А.А. Котёлкина // Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V съезда биохимиков России, конференции ADFLIM.- ACTA NATURAE / Спецвыпуск Т.1 – под ред. А.И. Григорьева, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили, А.Г. Габитова, В.Т. Иванова, А.П. Савицкого - 2016. - С.102.

5. Котёлкина А.А. / Тучные клетки тимуса при экспериментальном канцерогенезе / А.А. Котёлкина // Материалы 89-й международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых "Теоретические и практические аспекты современной медицины". – Симферополь, 2017. - С.630-632.

6. Котёлкина А.А. Реакция тучных клеток тимуса на канцерогенез, водноиммобилизационный стресс и сочетанное действие факторов / А.А. Котёлкина, Л.М. Меркулова, О.Ю. Кострова // Строение организма человека и животных в норме, патологии и эксперименте. Сб. работ, посв. 85-летию со дня рождения проф. А.С. Леонтьева, под ред. доц. Т.М. Студеникиной, И.А. Мельникова, доц. В.С. Гайдука; Бел. гос. мед. ун-т. - Минск: БГМУ, 2017. - С. 300-304.

7. Котёлкина А.А. Биогенные амины и тучные клетки тимуса при экспериментальном канцерогенезе, вызванным введением N-метил-N-нитрозомочевина / А.А. Котёлкина, Л.М. Меркулова, О.Ю. Кострова // Единство науки, образования и практики медицине будущего. Посвящается 110-летию со дня рождения академика АМН СССР, профессора Д.А. Жданова и 260-летию Первого МГМУ имени И.М. Сеченова. сб. статей/ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). – М.: Издательство Первого МГМУ имени И.М. Сеченова. 2018. - С.80-83.

8. Котёлкина А.А. Морфофункциональное состояние тканевых элементов тимуса при канцерогенезе различной локализации /А.А. Котёлкина // Вестник новых медицинских технологий - 2018. - № 4. - С.255-259.

9. Котёлкина А.А. Изменение содержания биогенных аминов и их соотношения в надпочечниках и тимусе при водноиммобилизационном стрессе / О.Ю. Кострова, А.А. Котёлкина, Л.М. Меркулова, И.С. Стоменская, Г.Ю. Стручко,

Н.Ю. Тимофеева, Н.В. Бубнова // Acta medica Eurasica. - 2019. – №3. – С.53-60. URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2019/3/7/>

Диссертация соответствует требованиям пункта 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013г.) и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа «Цитоархитектоника тимуса при экспериментальном канцерогенезе в условиях стресса» Котёлкиной Анастасии Андреевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 - Клеточная биология, гистология, цитология (медицинские науки).

Заключение принято на совместном заседании кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины, кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» от 25 ноября 2019 г.

Присутствовало на заседании 21 человек.

Результаты открытого голосования: «за» – 21, «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 6 от «25» ноября 2019 г.

Председательствующий на заседании

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой нормальной и
топографической анатомии с оперативной
хирургией ФГБОУ ВО «Чувашский
государственный университет имени
И.Н. Ульянова»



Стручко Глеб Юрьевич

Подпись руки			
заверяю			
Начальник отдела делопроизводства			
ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова»			
25		11	20 19
		И.А. Гс...	