

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Стручко Глеба Юрьевича на диссертационную работу Цомартовой Элины Сослановны «Морфологические и цитофизиологические изменения тимуса крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана в пренатальном и постнатальном периодах», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

### Актуальность темы исследования

Диссертация Цомартовой Элины Сослановны посвящена теме, актуальность которой не вызывает сомнений – оценке влияния дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ), широко применяемого в качестве инсектицидного средства, на развитие тимуса. Длительный период полураспада ДДТ, его устойчивость к разрушению под действием химических и физических факторов и, как следствие, способность накапливаться в пищевых цепях делают это вещество опасным загрязнителем окружающей среды, способным наносить существенный вред здоровью человека. Проблема усугубляется тем, что влияние низких доз ДДТ, не превышающих максимально допустимого уровня его содержания в пищевых продуктах, на развивающийся организм недостаточно хорошо изучено. Между тем, обладая свойствами эндокринного дисраптора, то есть вещества, способного изменять нормальное функционирование эндокринных органов, ДДТ способен оказывать негативное влияние на становление и активность иммунной системы, которая, как известно, неразделимо связана с эндокринной. Тимус как центральный орган иммунной системы, выполняющий также и эндокринные функции, представляется одной из вероятных мишеней дисрапторного действия поллютантов, в том числе и ДДТ. Однако имеющиеся в литературе данные о влиянии этого вещества на тимус немногочисленны и касаются главным образом высоких, полулетальных и сублетальных доз, тогда как действие его низких доз изучено слабее, а данные об их влиянии на пренатальное развитие тимуса практически отсутствуют. Таким образом, работа Э.С. Цомартовой, призванная восполнить имеющиеся пробелы в знаниях о возможных последствиях потребления данного вещества с точки зрения его влияния на состояние иммунной системы развивающегося организма, имеет несомненную научную и практическую значимость.

### Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором диссертации проведено систематическое исследование влияния постоянного потребления ДДТ в низких дозах (соответствующих максимально допустимым уровням его содержания в продуктах питания) от зачатия до постпубертатного периода на морфологию тимуса, а также на спонтанную и индуцированную конканавалином А пролиферацию тимоцитов. Впервые описаны морфологические и цитофизиологические изменения тимуса у животных различных возрастов, потреблявших ДДТ, и проанализирована динамика этих

изменений от периода новорожденности до постпубертатного периода в сравнении с интактными животными. Установлено, что в пренатальном периоде наиболее чувствительными к ДДТ оказываются стромальные компоненты тимуса и что в постнатальном онтогенезе воздействие этого вещества ведет к повышенному содержанию лимфоцитов в тимусе после полового созревания вследствие изменения динамики клеточной пролиферации и замедления возрастной инволюции. При этом пролиферативный ответ тимоцитов на Т-клеточный митоген у животных, подвергавшихся действию ДДТ, оказывается сниженным, что может быть обусловлено замедлением их дифференцировки и являться причиной нарушения функционирования иммунной системы.

### **Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Методология исследования основана на динамической оценке морфологических характеристик коркового и мозгового вещества тимуса и цитофизиологических параметров тимоцитов у крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора в пренатальном и постнатальном периодах. Сроки исследования включают основные периоды в развитии особи: новорожденности, подсосный, пубертатный и постпубертатный (начало активного репродуктивного периода), совпадающие с периодами развития и начала инволютивных возрастных изменений в тимусе. Выбор доз и способ их введения основан на анализе нормативной документации, регламентирующей содержание ДДТ в продуктах питания, питьевой воде, а также научной литературы об отличиях метаболизма ДДТ в организме крысы. В экспериментальном исследовании использован комплекс морфологических (световая микроскопия и компьютерная морфометрия гистологических препаратов, иммуногистохимия с количественной оценкой результатов), культуральных, радиоизотопных и статистических методов.

Достоверность результатов подтверждается применением современных методов исследования, в полной мере соответствующих поставленным задачам, наличием необходимых контролей, большим объемом экспериментального материала (не менее 12 животных на точку) и проведенным статистическим анализом. Материалы диссертации опубликованы в рецензируемых научных изданиях и представлены на всероссийских и международных конференциях.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Несмотря на экспериментальный характер работы, практический выход диссертационного исследования значителен. Результаты работы могут быть востребованы как коллективами научно-исследовательских лабораторий, так и специалистами-иммунологами, патоморфологами, врачами смежных специальностей.

Доказана способность низких доз ДДТ, предусмотренных максимально допустимыми уровнями его содержания в продуктах питания, нарушать пренатальный и постнатальный морфогенез тимуса. Выявленное нарушение

формирования пролиферативного ответа тимоцитов на Т-клеточный митоген у организмов, подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию низких доз ДДТ, показывает вероятный механизм нарушения у них реакций клеточного иммунитета.

Полученные данные являются основой для изучения дисморфогенетического действия ДДТ на развивающиеся органы иммунной защиты.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Основные положения диссертационной работы, расширяющие представления о морфологии тимуса в экспериментальных условиях, могут дополнить учебно-методические пособия для студентов медицинских ВУЗов по гистологии, эмбриологии и цитологии.

#### **Оценка содержания диссертации, ее завершенность**

Диссертация написана по традиционной схеме, содержит 125 страниц, 65 рисунков и 2 таблицы. Работа включает введение, главы «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение полученных результатов», заключение и выводы. Список литературы содержит 183 источника, из них 26 отечественных, остальные зарубежные.

Во **введении** автор обосновывает актуальность избранной темы, приводит данные о степени разработанности проблемы, формулирует цели и задачи работы, а также положения, выносимые на защиту, раскрывает научную новизну и научно-практическую значимость полученных результатов, описывает методологию исследования, сообщает сведения о личном вкладе в работу и публикациях по ее материалам, а также о внедрении результатов исследования.

**Обзор литературы изложен** на 20 страницах. В нем приведены данные об источниках развития тимуса в эмбриогенезе, о клеточных и молекулярных механизмах, лежащих в основе этого процесса, а также об изменениях в структуре органа, численности и функциональной активности тимоцитов в постнатальный период онтогенеза. Далее автор переходит к рассмотрению свойств ДДТ как эндокринного дисраптора, способного нарушать развитие и функционирование иммунной системы. Описаны физико-химические свойства ДДТ, возможные пути его распространения в окружающей среде и попадания в организм человека, проанализированы имеющиеся в литературе данные о влиянии этого вещества на функциональное состояние органов иммунной защиты, прежде всего тимуса. Обзор достаточно компактный, но при этом емкий, материал в нем изложен логично и последовательно. Содержание этой части диссертации тесно связано с темой собственного исследования и свидетельствует об уверенной ориентации автора в изучаемой проблеме.

В главе «**Материалы и методы**» приведены сведения о количестве и источнике экспериментальных животных, даны все необходимые ссылки на нормы и правила обращения с ними, изложена общая схема эксперимента и описаны использованные в работе методические подходы, включающие

гистологические и иммуногистохимические исследования, культивирование клеток, радиоизотопный анализ клеточной пролиферации, а также методы статистической обработки количественных данных. Методы описаны хорошо и понятно, с достаточной, но не избыточной степенью подробности. Чувствуется, что автор уверенно владеет описанными экспериментальными приемами, лично проводил культивирование клеток и анализировал полученные результаты.

Глава **«Результаты и обсуждение»** детально структурирована и снабжена большим количеством иллюстративного материала. Прежде всего автор проводит морфологический и морфометрический анализ тимуса на разных сроках постнатального онтогенеза крыс (период новорожденности, подсосный, пубертатный и постпубертатный периоды), оценивая динамику развития стромального и паренхимного компонентов у животных, получавших ДДТ, в сравнении с контрольной группой. Анализуются такие параметры, как абсолютная и относительная масса тимуса, содержание лимфоцитов в корковом и мозговом веществе, ширина безэпителиального пространства, выраженность междольковых соединительнотканых перегородок, количество и стадия развития тимических телец. На основании полученных результатов автор приходит к заключению, что на ранних сроках онтогенеза дисморфогенетический эффект ДДТ проявляется в замедлении развития стромальных компонентов тимуса, а именно соединительнотканых перегородок, делящих орган на дольки, и ретикулярных эпителиоцитов, а также образуемых ими телец Гассала. Выявлены также изменения в динамике формирования безэпителиального пространства: если у интактных животных оно увеличивалось в течение первой недели постнатального онтогенеза, после чего регрессировало, то под влиянием ДДТ его образование и последующая регрессия сдвигались на более ранние сроки. На более поздних стадиях постнатального онтогенеза отмечено замедление возрастной инволюции тимуса у крыс, потреблявших ДДТ, что проявлялось в большем по сравнению с контрольной группой содержании лимфоцитов как в корковом, так и в мозговом веществе. Далее автор оценивает активность спонтанной пролиферации клеток тимуса контрольных и подопытных животных в различные периоды онтогенеза и выясняет, что под действием ДДТ пролиферативная активность тимоцитов у новорожденных и 7-суточных крыс оказывается сниженной, но в дальнейшем уменьшается в меньшей степени, чем у контрольных животных. Таким образом, данные морфометрического анализа, свидетельствующие о замедлении возрастной инволюции тимуса, подтверждаются результатами оценки пролиферативной активности тимоцитов: под действием ДДТ рост тимуса замедляется и, как следствие, смещается на более поздний период онтогенеза. Однако сохранение большого числа лимфоцитов в тимусе половозрелых животных, получавших ДДТ, не свидетельствует о функциональной полноценности органа: в экспериментах по стимуляции тимоцитов конканавалином А автором показано, что клетки этих животных обладают сниженной способностью отвечать на митоген, вероятно, по причине их низкодифференцированного статуса.

В главе «Обсуждение» и в общем заключении к диссертации Э.С. Цомартова обобщает полученные экспериментальные данные, анализирует их, опираясь на имеющиеся в литературе сведения, и выдвигает гипотезы о причинах обнаруженных изменений и возможных последствиях дисрапторного действия ДДТ для иммунной системы половозрелого организма. Работа содержит четыре вывода, которые закономерно вытекают из поставленных задач и в полной мере обоснованы результатами экспериментов.

Оценивая работу Э.С. Цомартовой в целом, следует отметить, что она представляет собой хорошо продуманное и спланированное исследование, отличающееся внутренней логичностью. Диссертация написана хорошим научным языком и проиллюстрирована большим количеством высококачественных микрофотографий. Каждая ее смысловая часть, включая обзор литературы и каждый раздел главы «Результаты собственных исследований», завершается кратким заключением, что значительно облегчает восприятие материала и подчеркивает стройную и ясную структуру работы.

Цель, задачи, выводы и положения, выносимые на защиту, сформулированы четко и грамотно, в изложении результатов хорошо прослеживается логика перехода от одной задачи к другой.

Автореферат соответствует материалам диссертации и полностью отражает ее содержание.

#### **Полнота изложения материалом диссертации в опубликованных работах**

По теме диссертационного исследования опубликовано 8 печатных работ, включая 3 статьи в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах данных (3 в библиографической базе Scopus, 2 – Web of Science.), из которых 2 в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

#### **Вопросы и замечания**

Не умаляя ценности оппонируемой диссертации, считаю возможным задать несколько вопросов, на которые хотелось бы получить соответствующие пояснения автора.

1. Какие изменения в тимусе Вы считаете наиболее неблагоприятными после пре- и постнатального воздействия эндокринного дисраптора ДДТ?
2. Объясните, почему при радиоизотопном методе пролиферативная активность у экспериментальных животных превышала контрольные значения только к 70-ым суткам, а при иммуногистохимическом методе и к 42-ым, и к 70-ым?

Принципиальных замечаний по рецензируемой работе нет.

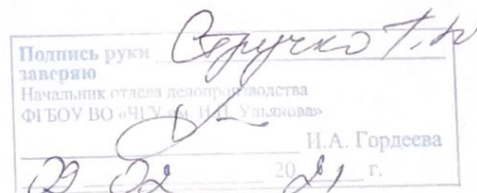
## Заключение

Диссертация Цомартовой Элины Сослановны «Морфологические и цитофизиологические изменения тимуса крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана в пренатальном и постнатальном периодах», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена важная научная задача по изучению постнатального морфогенеза тимуса в условиях воздействия дихлордифенилтрихлорэтана в низких дозах, что имеет существенное значение для теоретической и практической медицины.

По своей актуальности, структуре, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости диссертационная работа полностью соответствует п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденным приказом ректора № 0094/Р от 31.01.2020 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Официальный оппонент: заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», доктор медицинских наук (по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология), профессор  
Г.Ю. Стручко

«09» февраля 2021 г.



428015, Чувашская Республика - Чувашия, город Чебоксары, Московский проспект, 15. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова». Тел.: +7 (908) 309-87-37, E-mail: glebstr@mail.