

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения

«Научно-исследов.  
проблем гигиены и  
док»

институт Комплексных  
альных заболеваний»,  
иских наук, профессор

С.Н. Филимонов

мая 2022 г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний»  
о научно-практической значимости диссертационной работы  
Андреевой Елизаветы Сергеевны «Влияние дыма лесного пожара на состояние репродуктивной и нервной систем у мелких млекопитающих»,  
представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15. - Экология (биологические науки)

**Актуальность исследования.** Возникновение масштабных лесных пожаров и причиняемый ими значительный ущерб экологическим сообществам является одной из важнейших проблем на современном этапе, как для нашей страны, так и для мира в целом. Дым от лесных пожаров способен распространяться на большие расстояния и затрагивать территории удаленные от первоначального источника задымления, тем самым подвергая значительное число животных негативному воздействию компонентами дыма – именно на этом факте соискатель делает акцент в своей работе, поскольку подобных исследований недостаточно в научной литературе. Воздействие токсичных соединений в составе дыма, негативно сказывается на состоянии диких животных, снижая их выживаемость, адаптацию и размножение. Мелкие млекопитающие, в частности грызуны, являются крайне важным, индикаторным звеном практически любого биоценоза и колебание их численности сказывается на популяциях всего биоценотического сообщества. Оценка состояния нервной и репродуктивной системы грызунов при воздействии дыма и продуктов горения, позволит дополнить картину экологического ущерба, причиняемого окружающей среде лесными пожарами.

**Цель** диссертационной работы Е.С. Андреевой обеспечена актуальностью проблемы и состояла в экологической оценке воздействия дыма лесного пожара в условиях экспериментального моделирования на показатели репродуктивной и нервной систем у мелких млекопитающих на примере беспородной белой крысы *Rattus norvegicus*.

Для достижения поставленной цели поставлены адекватные задачи, решаемые с использованием большого числа современных методов исследования.

**Научная новизна.** В результате выполненных исследований автором впервые выявлены нарушения морфофункционального состояния репродуктивной системы у животных при воздействии дыма лесного пожара в условиях экспериментального моделирования. Показано, что интермиттирующее действие продуктов горения, выделяющихся при горении лесной биомассы, приводит к значительному снижению репродуктивного потенциала у белых крыс, о чем свидетельствовало не только угнетение сперматогенеза и нарушение циклической функции яичников, но и снижение выживаемости и нарушение поведенческих показателей у потомства. Высокая смертность потомства первого поколения, а также снижение его двигательной активности наряду с повышением уровня тревожности имеет существенное значение при прогнозировании численности популяции мелких млекопитающих в условиях задымления от лесных пожаров. Автором выявлены стойкие нарушения показателей ЦНС белых крыс непосредственно после экспозиции дымом лесного пожара, сохраняющиеся в отдаленном периоде – снижение двигательной и исследовательской активности, нарушение способности к пространственной ориентации и повышение тревожности на фоне дегенеративных изменений в ткани сенсомоторной коры головного мозга. Установлено, что в течение 60-ти дней (длительность полного цикла сперматогенеза у крыс) после экспозиции происходит восстановление мужского репродуктивного потенциала и снижается риск негативных эффектов экспозиции дымом у потомства. Впервые автором выявлено гиперметилование ДНК в клетках крови у животных, подвергавшихся воздействию дыма лесного пожара, и оценено прогностическое значение данного показателя в развитии нарушений поведения у потомства и его использования в качестве дополнительного критерия биоиндикации экспонированных дымом особей.

**Практическая значимость.** Полученные результаты комплексных экспериментальных исследований позволили автору подать заявку на патент на полезную модель № 2022107278 от 18.03.2022 «Устройство для моделирования интоксикации у мелких лабораторных животных продуктами горения биомассы». Практическая значимость выполненных работ состоит в возможности использования разработанной экспериментальной модели и применяемых автором методических подходов для оценки последствий токсичного воздействия компонентов дыма лесного пожара на мелких животных в практике экологических и токсикологических исследований. Наряду с этим полученные результаты о репродуктивной токсичности дыма лесного пожара могут быть

использованы при прогнозировании численности популяций мелких млекопитающих в условиях задымления. Использование показателя полногеномного метилирования ДНК в клетках крови животных в качестве критерия биоиндикации при воздействии дыма лесных пожаров расширяет возможности экологического мониторинга.

Теоретическая и практическая значимость, а также перспективность работы подтверждены финансовой поддержкой в гранте РФФИ «Оценка вклада эпигенетических изменений, обусловленных воздействием продуктов горения (на экспериментальной модели лесного ландшафтного пожара) в развитии отдалённых последствий у последующих поколений» (№ 18-315–00237) и крупного проекта «Фундаментальные основы, методы и технологии цифрового мониторинга и прогнозирования экологической обстановки Байкальской природной территории» (РАН № 2020-1902-01-071).

**Степень достоверности и апробация материалов исследования.** Достоверность результатов обусловлена большим объёмом экспериментального материала и доказана результатами статистической обработки. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 8 научных и научно-практических конференциях разного уровня (международных, всероссийских и региональных). Список публикаций включает 16 научных работ, из них 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК, Минобрнауки России для публикации материалов диссертационных работ, 2 – в журналах, индексируемых в международных базах WOS.

**Структура и объём диссертации.** Диссертация изложена на 108 страницах, состоит из введения, обзора литературы, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы. Работа иллюстрирована 22 таблицами, 17 рисунками. Список литературы включает 153 источника, из которых 108 – иностранные.

**Введение** сформулировано логично и даёт цельное представление об актуальности диссертационного исследования. Чётко сформулированы цели и задачи работы, основные положения, выносимые на защиту. В конце раздела автор убедительно представляет данные о размерах личного участия в проведённом исследовании.

**Глава 1 «Обзор литературы»** (4-32 стр.) состоит из 4 подразделов. Автором проведён анализ отечественных и зарубежных литературных данных о распространении лесных пожаров, представлены современные данные о загрязнении атмосферного воздуха компонентами дыма, выделяющихся при лесных пожарах, и рассмотрены последствия влияния дыма лесных пожаров на экологические сообщества. Подробно охарактеризованы физико-географические условия исследуемой территории (Прибайкальского национального парка), а также проведён анализ данных официальной

статистики для данной территории по динамике горимости лесов и распределению лесных пожаров по видам. На основании проанализированных данных автором обоснован выбор экспериментальной модели лесного пожара для воспроизведения условий, максимально близких к натурным по виду сгораемого субстрата и уровню загрязнения воздуха продуктами горения лесной биомассы.

**Глава 2 «Объекты, объем и методы исследования»** (33–43 стр.) содержит подробное описание использованных методик и дизайна эксперимента. В главе представлены методы качественного и количественного анализа проб воздуха экспозиционных камер, методы оценки морфофункционального состояния репродуктивной и центральной нервной систем животных, а также метод оценки полногеномного метилирования ДНК в половых и соматических клетках животных. Репрезентативность и достаточное количество материала, а также адекватный статистический анализ материала исследований в целом обеспечили автору возможность полностью реализовать запланированные цели и задачи.

**В главе 3 «Материалы собственных исследований»** (44–56 стр.), состоящей из двух подглав, описана характеристика лесного горючего материала, приведена схема установки для моделирования лесного пожара и основные принципы её работы. В главе подробно описаны результаты общего качественного анализа воздуха в камере и качественного анализа летучих альдегидов, а также представлены показатели содержания некоторых компонентов дыма с последующим сравнением полученных данных с результатами инструментальных замеров из литературных источников. Проведённые исследования показали, что при содержании монооксида углерода в экспозиционной камере на уровне 5,5 ПДК<sub>мр</sub> ( $27,5 \pm 1,2$  мг/м<sup>3</sup>) отмечается значительное превышение ПДК<sub>мр</sub> таких компонентов дыма как РМ<sub>2,5</sub> (в 11,8 раза), фурфурола (в 3,6 раза), ацетальдегида (в 65 раз) и бензола (в 1,3 раза). В конце главы автор обоснованно заключает, что для выявления токсических последствий воздействия продуктов горения, выделяющихся при лесных пожарах, создана модель устойчивого низового лесного пожара, и выбранный режим проведения эксперимента позволили в совокупности воспроизвести уровень задымлённости близкий к реальным замерам в условиях лесных пожаров.

**В главе 4 «Исследование репродуктивной и нервной системы белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма лесного пожара, и их потомства»** (57–77 стр.) первая подглава (4.1) содержит детальное представление результатов изучения состояния репродуктивной системы экспонированных дымом животных обоего пола. Сразу после

окончания воздействия дыма у животных выявлено значительное угнетение процесса сперматогенеза (на 22,7%) и нарушение эстрального цикла. Анализ морфоструктурных показателей половых гонад позволил автору сделать вывод о большей резистентности репродуктивной системы самок белых крыс к воздействию продуктов горения лесной биомассы.

Вторая подглава (4.2) содержит результаты обследования потомства первого поколения, полученного при спаривании экспонированных дымом животных с интактными партнерами. Впервые установлено, что постнатальная смертность среди полученного потомства может достигать 32–37%, наряду с этим структура поведения половозрелого потомства была значительно изменена в сторону снижения активности и повышения тревожности, что в совокупности свидетельствует о выраженном негативном отдаленном эффекте дыма лесного пожара.

В подглаве 4.3 рассмотрены особенности влияния дыма лесного пожара на показатели центральной нервной системы белых крыс. Установлено, что длительное воздействие дыма в течение 4 недель приводит к стойким изменениям показателей поведения животных, характеризующимся снижением двигательной активности, повышением тревожности и нарушением когнитивных способностей, а также нарушением структуры ткани головного мозга. Автором отмечена более высокая чувствительность самок к действию дыма по сравнению с самцами. В качестве замечания стоит отметить слабую обоснованность данного вывода.

Подглава 4.4 посвящена оценке состояния белых крыс в отдаленном периоде после воздействия дыма лесного пожара, сопоставимом по длительности со сроком сперматогенеза у крыс. Автором поставлена задача оценить стойкость произошедших изменений только у мужского поколения, так как компоненты дыма в большей степени оказали негативное воздействие на показатели мужского репродуктивного потенциала. Автором установлено, что отдалённый период является важным фактором в восстановлении мужского репродуктивного потенциала и предупреждении негативных эффектов воздействия дыма лесного пожара у потомства, однако не является достаточным для нормализации показателей нервной системы экспонированных дымом животных.

**Глава 5 «Оценка эпигенетических изменений в половых и соматических клетках родительского поколения и их роли в развитии патологии у потомства»** (78–85 стр.) состоит из двух подглав. В подглаве 5.1 автор представляет результаты сравнительного исследования уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови, а также тканях головного мозга и половых гонад экспонированных дымом

животных. Автором установлено индуцированное воздействием дыма лесного пожара повышение глобального метилирования ДНК только в клетках крови у самцов, при этом в отдалённом периоде автором отмечается нормализация данного показателя до уровня контрольной группы. В качестве замечания – это заключение не отражено в выводах.

В подглаве 5.2 автор приводит результаты статистического анализа полученного массива данных для оценки прогностического значения полногеномного метилирования ДНК в клетках крови экспонированных дымом животных. По результатам дискриминантного анализа автором определены два информативных показателя, позволивших разграничить экспонированных дымом животных и особей контрольной группы с точностью до 87,5%. Одним из таких показателей являлся уровень полногеномного метилирования ДНК в крови животных, что позволило автору сделать вывод о возможности применения данного показателя в качестве дополнительного критерия биоиндикации при воздействии дыма лесного пожара. Применение корреляционного и регрессионного анализа позволило автору оценить связь между уровнем метилирования ДНК в клетках крови у родительского поколения и показателями тревожности и двигательной активности у потомства.

Диссертационная работа Е.С. Андреевой написана научным языком, материал изложен логично и последовательно. Все полученные результаты были статистически обработаны и представлены в виде таблиц, рисунков, графиков и гистограмм. Выводы корректны, соответствуют поставленным задачам, логично вытекают из общего содержания работы и свидетельствуют о реализации цели исследования.

В качестве дискуссии хотелось бы услышать от соискателя ответы на следующие **вопросы:**

1. Почему в проведённом исследовании не оценивалось влияние дыма лесного пожара на беременных самок и их потомство?

2. Экстраполирует ли автор полученные экспериментальные данные на человека? Если да, то в каких границах?

3. У самцов выявлено повышение уровня полногеномного метилирования ДНК в клетках крови, в то время как в тканях головного мозга и гонадах метилирования ДНК не установлено (Глава 5). Чем на Ваш взгляд можно объяснить данный факт?

4. В клетках крови в отдалённом периоде после воздействия дымом лесного пожара у крыс-самцов показана нормализация глобального метилирования ДНК до уровня контрольной группы (Глава 5). Какие механизмы на ваш взгляд, могут лежать в этом процессе? Уточните пожалуйста проводился ли подсчёт лейкоцитарной формулы у крыс

основной и контрольной групп – до воздействия дымом лесного пожара, после и в отдалённом периоде?

### **Замечания:**

1. В «Научной новизне» и «Практической значимости» рекомендован уровень полногеномного метилирования ДНК клеток крови в качестве дополнительного критерия биоиндикации при воздействии дыма лесных пожаров. Логичнее было бы оставить предложение в практической значимости и убрать из научной новизны.

2. При описании материалов и методов было указано, что второй этап обследования экспонированных животных осуществляли в отдалённом периоде, который составил 60 дней и не дано пояснение, почему выбран такой срок. Далее по тексту только в 4 главе в подглаве 4.4. «Характеристика состояния белых крыс в отдалённом периоде после воздействия дыма лесного пожара» объясняется причина длительности отдалённого периода. Вероятно было бы более правильным дать объяснение ранее, а не в середине работы.

3. В отдалённом периоде обследования животных автор использовал только самцов родительского поколения. На наш взгляд более корректно было бы оценить вклад в развитие нарушений у потомства от обоих родителей.

Сделанные замечания по диссертационной работе Елизаветы Сергеевны Андреевой в большей степени носят редакционный и рекомендательный характер, и не снижают научную и практическую значимость выполненных работ.

### **Заключение**

На основании представленной диссертационной работы и автореферата, можно заключить следующее: данная работа «Влияние дыма лесного пожара на состояние репродуктивной и нервной систем у мелких млекопитающих», выполненная Елизаветой Сергеевной Андреевой оригинальна и проведена диссертантом самостоятельно и обладает внутренним единством. Работа представляет собой завершённую квалификационную научно-исследовательскую работу, соответствующую уровню искомой научной степени. По актуальности, объёму материалов, использованию классических и современных методов, новизне, теоретической и практической значимости и выводам является самостоятельным, законченным научным исследованием и соответствует п. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением

Правительства РФ от 24.09.13 № 842 в ред. Постановления Правительства Российской Федерации от 20.03.2021 г. № 426, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор – Елизавета Сергеевна Андреева заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки).

Диссертация, автореферат диссертации и отзыв обсуждены и одобрены на совместном заседании лаборатории молекулярно-генетических и экспериментальных исследований и лаборатории экологии человека и гигиены окружающей среды (протокол № 12 от 16 мая 2022 г.).

Заведующая лабораторией молекулярно-генетических  
и экспериментальных исследований  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
комплексных проблем гигиены и профессиональных  
заболеваний»  
доктор биологических наук, доцент \_\_\_\_\_

Жукова А. Г.

Личную подпись д.б.н., доцента Жуковой А.  
ученый секретарь НИИ КППЗ, к.б.н. \_\_\_\_\_

Корсакова Т. Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний»  
654041, Кемеровская область, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, 23  
Тел/факс (8–3843) 796–669; тел. (8–3843) 796–979  
E-mail: niikpgpz@mail.ru  
www.nii-kpg.ru