

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.030.01,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «ИНСТИТУТ ТОКСИКОЛОГИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА», ПО  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА  
НАУК

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
Решение диссертационного совета от 16.03.2021 № 12

О присуждении Осечкиной Наталье Сергеевне, гражданке Российской Федерации, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Прогнозирование тяжести интоксикации этанолом на основе генетических маркеров ГАМК<sub>A</sub>-рецептора» по специальности 14.03.04 – токсикология принята к защите 25.12.2020 (протокол заседания № 9) диссертационным советом Д 208.030.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России) (адрес: 192019, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева д.1, Приказ Рособнадзора № 2296 - 576 от 10.09.2010, №835/нк от 23.07.2015).

Соискатель – Осечкина Наталья Сергеевна, 1988 года рождения.

В 2011 году соискатель окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева», диплом ВСА 1043626 от 16.06.2011 по специальности «Биотехнология»,

работает Осечкина Н.С. в должности научного сотрудника лаборатории фармакогенетики Федерального государственного унитарного предприятия «Научный центр «Сигнал» (ФГУП «НЦ «Сигнал»). В период подготовки диссертации Осечкина Наталья Сергеевна работала на условиях внешнего совместительства в должности младшего научного сотрудника лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства».

Диссертация «Прогнозирование тяжести интоксикации этанолом на основе генетических маркеров ГАМК<sub>A</sub>-рецептора» выполнена на базе лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства».

Научный руководитель – доктор химических наук, доцент Назаров Георгий Валерьевич, Федеральное государственное унитарное предприятие «Научный центр «Сигнал», главный научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

– **Глотов Андрей Сергеевич**, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», отдел геномной медицины, руководитель;

– **Сычева Людмила Петровна**, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России, ведущий научный сотрудник

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН), Санкт-Петербург, в своем положительном отзыве, подписанном Гончаровым Николаем Васильевичем, доктором биологических наук, лаборатория сравнительной биохимии ферментов, главный научный сотрудник, заведующий, указала, что результаты, полученные в ходе исследования, обработаны с применением современных методов статистики, что дало возможность автору получить объективную и достоверную информацию, а также аргументированно и убедительно обосновать научные положения, выводы и практические рекомендации, изложенные в диссертации.



Соискатель имеет 8 опубликованных работ по теме диссертации, в которых представлены результаты исследования. В рецензируемых научных изданиях опубликовано 7 статей. Основные работы по теме диссертации:

1. Осечкина, Н. С. Генетические особенности, определяющие различие эффектов воздействия этанола на организм / Н.С. Осечкина, Г.В. Назаров, Е.Ю. Бонитенко [и др.] // Medline. – 2013. – № 14. – С. 993-1007.

2. Осечкина, Н.С. Влияние экспрессии и полиморфизма генов, кодирующих ГАМК-рецепторы, на тяжесть депримирующего действия этанола у крыс / Н.С. Осечкина, Г.В. Назаров, Е.Ю. Бонитенко [и др.] // Токсикологический вестник. – 2014. – № 6. – С. 22-27.

3. Осечкина, Н.С. Оценка уровня экспрессии генов, кодирующих ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы, при хронической и острой интоксикации этанолом лабораторных крыс / Н.С. Осечкина, М.Б. Иванов, Г.В. Назаров [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – № 10. – С. 451-454.

4. Осечкина, Н.С. Влияние полиморфизма гена *Gabra2* на степень отравления крыс при острой интоксикации этанолом / Н.С. Осечкина, Г.В. Назаров, М.Б. Иванов [и др.] // Токсикологический вестник. – 2019. – № 3 (156). – С. 3-7.

В работах представлены данные о влиянии молекулярно-генетических особенностей генов, кодирующих субъединицы ГАМК<sub>A</sub>-рецептора, на степень тяжести интоксикации этанолом, а также перспективы их использования в качестве маркеров прогнозирования исхода интоксикации. Авторский вклад соискателя состоял в теоретическом анализе информации по рассматриваемой теме, выполнении экспериментальных исследований, статистической обработке и анализе полученных результатов.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

**Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова**

**Российской академии наук (ИЭФБ РАН)** – ведущей организации. Отзыв положительный, содержит замечания.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационного исследования Н.С. Осечкиной нет. Несмотря на то, что диссертация в целом изложена достаточно хорошим профессиональным и литературным языком, имеются грамматические и стилистические погрешности. Так, представляется избыточным с точки зрения токсикологической характеристики состояния организма словосочетание «глубина тяжести угнетения». Неуместно писать «на сегодняшний день» вообще, и уж тем более цитируя при этом работы 2011 и 2015 годов.

Небольшое искажение токсикологического термина «депрЕмирующий» превращает его в термин социально-экономический. Аналогично, словосочетание «бальная система» с одной буквой «л» наводит на мысли о хореографии. В русскоязычной литературе не принято написание «ген-рефери», правильно писать «референсный ген». Говоря о маркерах, надо понимать, что они являются категориями диагностики и в качестве таковых должны иметь количественные метрологические характеристики, главные из которых - чувствительность и специфичность, а в контексте данной работы чрезвычайно важной представляется прогностическая значимость. К сожалению, эти характеристики в работе отсутствуют, а без них трудно понять степень преимущества генетических маркеров перед более простыми физиолого-биохимическими.

Указанные замечания и недостатки не снижают общую положительную оценку диссертации, но должны быть учтены автором в дальнейшей научной работе.

- **Глотова А.С.** – официального оппонента, доктора биологических наук, руководителя отдела геномной медицины Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта». Отзыв положительный. Содержит замечания и вопрос:



1. К сожалению, автор в обзоре литературы в разделе 1.2 приводит данные, в основном имеющие отношение к человеку. Известно ли соискателю информация об аллельной полиморфизме у крыс и мышей, определяющих чувствительность или устойчивость к алкоголю?

2. Использовать выражение «полиморфизмы» не корректно. Это явление и к нему не применимо множественное значение. Целесообразно использовать выражение «варианты», «аллельные варианты», особенно с учетом того, что Автор сам правильно данный термин описывает в Словаре Терминов на стр. 135.

3. Аллели следует везде по тексту приводить курсивом (включая аминокислотное обозначение).

• **Сычевой Л.П.** – официального оппонента, доктора биологических наук, профессора, ведущего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России. Отзыв положительный, содержит вопросы:

1. С чем может быть связана противоположно направленная экспрессия генов при острой и хронической интоксикации?

2. Какие аспекты проведенного исследования используются в работе лабораторий научно-исследовательских организаций ФМБА России и Министерства обороны РФ?

3. Насколько экономически эффективна предложенная схема мониторинга состояния больных при отравлении этанолом?

Заданные вопросы имеют дискуссионный характер и ни в коей мере не снижают общей положительной оценки диссертации.

• **Ковалева Д.А.** – кандидата химических наук, заведующего лабораторией биохимии Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты

прав потребителей и благополучия человека. Отзыв положительный, вопросов и замечаний не содержит.

- **Артюшковой Е.Б.** – доктора биологических наук, директора НИИ экспериментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Отзыв положительный, вопросов и замечаний не содержит.

- **Кузьмина А.А.** – доктора медицинских наук, старшего научного сотрудника научно-исследовательского испытательного центра (медико-биологической защиты) Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ) и **Юдина М.А.** – доктора медицинских наук, начальника управления научно-исследовательского испытательного центра (медико-биологической защиты) ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ.

Отзыв положительный. Содержит замечания и вопросы.

Замечания:

1. В тексте автор часто и не всегда последовательно использует термины, не являющиеся общепринятыми в токсикологии, такие как «степень депримирующего действия», «глубина депримирующего действия», «степень выраженности депримирующего действия», «степень интоксикации», «клиника интоксикации крыс», «выраженность острого отравления», «повышенный риск гибели», «повышенная гибель», «побочные эффекты отравления токсикантом», «нелетальный исход» и т. п., что несколько снижает интеллектуальный фон научного текста;

2. Неудачная формулировка первого положения, выносимого на защиту, (стр. 7) существенно затрудняет восприятие его сути, которая раскрывается только после ознакомления со всем объемом экспериментального материала;



3. Формулировка второго положения, выносимого на защиту, содержит достаточно спорный тезис об определяющей роли полиморфного локуса гена *Gabra2* в «степени интоксикации этанолом», что вероятно является следствием некорректного использования терминов;

4. В резюме по экспериментальному разделу 3.3 (стр. 14) автор приводит выводы об активации ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплекса в ответ на острое отравление этанолом и об ослаблении ГАМК-ергической передачи при длительном употреблении алкоголя, исключительно как следствия выявленных им изменений экспрессии генов, при этом не учитывает общеизвестный факт непосредственного воздействия молекул этанола на ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы;

5. В заключении автор с необоснованной легкостью утверждает о том, что результаты проведенного исследования представляют основу «персонализированной медицины» (стр. 24).

Вопросы:

1. Что Вы подразумеваете под понятиями «экспериментальное установление» и «глубина депримирующего действия этанола», использованными в формулировке цели исследования?

2. Уточните пожалуйста направленность изменения экспрессии гена *Gabra4* у крыс при остром отравлении этанолом (в формулировке первого положения, выносимого на защиту);

3. Во втором положении, выносимом на защиту используются термины «степень интоксикации» и «повышенный риск гибели». Не могли бы Вы пояснить смысл этих терминов с позиций токсикологии?

4. Острую интоксикацию алкоголем Вы моделировали внутри брюшинным введением 33% раствора этилового спирта в дозе, равной 0,8 ЛД<sub>50</sub>. Будут ли выявленные Вами закономерности справедливы и для других доз токсиканта? Поясните, пожалуйста, выбор дозы и сроков тестирования (3 и 8 часов), в том числе применительно к возможной экстраполяции этих параметров с животных на человека?

5. Какие генетические особенности организма влияния которых на толерантность к отравлению этанолом научно доказано Вы знаете? Исследовали ли Вы возможную взаимосвязь между ними (например гена ADH1B, кодирующего бета-субъединицу алкогольдегидрогеназы) и полиморфным маркерам ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов?

6. Поясните, на каком основании Вы объединили животных с состоянием «физиологическая норма» и «оглушение» в группу «легкая степень интоксикации», а «сопор», «поверхностная кома», «глубокая кома», «терминальная кома», «летальный исход» - в группу «тяжелая степень интоксикации»?

7. Уточните, каким образом выявленные Вами маркеры используются при проведении работ ФГБУН ИТ ФМБА России по оценке тяжести неврологических нарушений после отравления этанолом?

- **Башарина В.А.** – доктора медицинских наук, профессора, начальника кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации – главного токсиколога-радиолога Министерства обороны Российской Федерации. Отзыв положительный. Содержит вопрос:

1. Какие по мнению автора могут использоваться генетические маркеры для прогноза депримирующего действия этанола у человека?

- **Соболева В.Е.** – доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии Федерального государственного унитарного предприятия "Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека" Федерального медико-биологического агентства.

Отзыв положительный, содержит замечание:

Небрежность в оформлении работы. Как результат – грамматические и стилистические погрешности, которые выходят за рамки незначительных



оговорок или опечаток. Например, диссертант цитирует работы 2011 и 2015 годов, но при этом употребляет фразу «на сегодняшний день». «Бальная» система написана с одной буквой «л». Однако указанные замечание не снижают общую положительную оценку диссертации.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высоким уровнем их компетентности, известными научными исследованиями, публикационной активностью по специальности «Токсикология» и наличием в ведущей организации авторитетных ученых по теме защищаемой диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**разработан** научный подход определения степени выраженности депримирующего действия этанола на лабораторных животных с использованием генетических маркеров ГАМК<sub>A</sub>-рецептора;

**предложены** перспективные маркеры определения тяжести нейротропного действия этанола на нервную систему: генотип С/Т (rs105733011) по гену *Gabra2* у крыс, перенесших острое отравление этанолом, а также генотип А/Т (rs10509624) по гену *Gabra3* и генотипы Т/Т, G/Т (rs197596713) по гену *Gabra4* у крыс, перенесших острое отравление этанолом на фоне предварительной алкоголизации;

**доказана** перспективность использования наследственных факторов ГАМК<sub>A</sub>-рецептора в качестве маркеров прогнозирования исхода интоксикации этанолом;

**введены** генетические маркеры нейротоксического действия этанола, применимые для оценки глубины депримирующего воздействия токсиканта на нервную систему.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

**доказана** значимость молекулярно-генетических особенностей ГАМК<sub>A</sub>-рецептора в патогенетических изменениях ГАМК-ергической системы при интоксикации этанолом;

**применительно к проблематике диссертационного исследования** **результативно использованы** молекулярно-генетические методики исследования при оценке тяжести интоксикации этанолом;

**изложены** аргументы, подтверждающие формирование различных ответных реакций со стороны ГАМК-ергической системы при острой и хронической интоксикации этанолом;

**раскрыты** представления об ассоциации генетических особенностей ГАМК<sub>A</sub>-рецептора с выраженностью депримирующего действия этанола на нервную систему;

**изучены** связи экспрессии и полиморфизма генов, кодирующих отдельные субъединицы ГАМК<sub>A</sub>-рецептора, со степенью депримирующего действия этанола;

**проведена модернизация** существующего методического подхода по оценке тяжести неврологических нарушений при отравлении крыс этанолом с использованием молекулярных маркеров ГАМК<sub>A</sub>-рецептора.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

**внедрены** методики выявления генетических маркеров ГАМК<sub>A</sub>-рецептора в практическую научно-исследовательскую деятельность ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ (Акт о реализации результатов диссертационного исследования соискателя ученой степени кандидата биологических наук Осечкиной Н.С. от 25 ноября 2019 г. ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ);

**определена** перспективность включения установленных генетических маркеров ГАМК<sub>A</sub>-рецептора при разработке персонализированного подхода в прогнозировании тяжести интоксикации этанолом;

**созданы** научно-обоснованные предложения по внедрению комплекса молекулярно-генетических методов для прогнозирования тяжести интоксикации этанолом;

**представлены** рекомендации по оценке степени выраженности угнетения функций центральной нервной системы на основе экспрессии и



полиморфизма генов, кодирующих отдельные субъединицы ГАМК<sub>A</sub>-рецептора.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:** результаты исследования получены на сертифицированном оборудовании для изучения генетических особенностей, на достаточном количестве экспериментальных животных (155 особей), при использовании современных высокоинформативных методов (токсикологических, молекулярно-генетических, статистических);

**теория** построена на современных знаниях о генетических особенностях, определяющих различие эффектов воздействия этанола на организм, и согласуется с опубликованными экспериментальными данными отечественных и зарубежных авторов;

**идея** выполненного исследования **базируется** на анализе научной литературы о значимости генетически детерминированных особенностей организма при действии этанола;

**использованы** современные методики по определению молекулярно-генетических маркеров;

**установлено** качественное совпадение отдельных результатов исследования с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

**использованы** высокоинформативные методики анализа и обработки экспериментальных данных.

**Личный вклад автора** состоит в теоретическом анализе информации по рассматриваемой теме, определении цели и задач исследования, разработке схемы проведения эксперимента, выполнении экспериментальных исследований, статистической обработке и анализе результатов исследования, формулировке выводов и положений, выносимых на защиту, подготовке и оформлении публикаций.

На заседании 16.03.2021 диссертационный совет Д 208.030.01 принял решение присудить Осечкиной Наталье Сергеевне учёную степень кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 – токсикология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 8 докторов наук по специальности 14.03.04 – токсикология, (биологические науки), участвовавших в заседании, из 29 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 22 , против 1, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета



М.Б. Иванов

Ученый секретарь

диссертационного совета

Л.В. Луковникова

16.03.2021