

**Заключение диссертационного совета 24.1.158.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук**

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 20 сентября 2022 г. № 168

О присуждении Козловой Марии Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние светового режима и хронической алкогольной интоксикации на морфофункциональное состояние печени и структуру её циркадных ритмов в эксперименте» на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология принята к защите 24 мая 2022 г., протокол № 167 диссертационным советом 24.1.158.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель – Козлова Мария Александровна, 1990 года рождения.

В 2011 г. Козлова М.А. окончила Биолого-химический факультет Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московский государственный областной университет (МГОУ) по специальности «Биоэкология». С третьего курса обучения в Университете М.А. Козлова работала в лаборатории экспериментальной биологии и биотехнологии научно-образовательном центре (НОЦ) МГОУ в г. Черноголовка. С 2009 по 2010 годы она работала лаборантом-исследователем, с 2010 по 2015 годы – заведующим виварием. В 2015 году Козлова М.А. прошла по конкурсу на должность младшего научного

сотрудника лаборатории экспериментальной биологии и биотехнологии НОЦ МГОУ в г. Черноголовка. С марта 2021 года по настоящее время занимает должность научного сотрудника лаборатории патологии клетки Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека им. академика А.П. Авцына».

Диссертация выполнена на базах лаборатории патологии клетки ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына» и лаборатории экспериментальной биологии и биотехнологии НОЦ Московского государственного областного университета в г. Черноголовка в рамках плановой НИР.

Научный руководитель: Кириллов Юрий Александрович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической морфологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека им. академика А.П. Авцына».

Официальные оппоненты:

1. Кветной Игорь Моисеевич, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, руководитель Центра молекулярной биомедицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт Фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры патологии медицинского факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»;

2. Бобков Павел Сергеевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Лаборатории биохимической фармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное

учреждение науки «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН» (ИБР РАН) в своем положительном заключении, подписанном Бродским Всеволодом Яковлевичем, доктором биологических наук, профессором, главным научным сотрудником лаборатории клеточных и молекулярных основ гистогенеза ИБР РАН и утвержденным директором ИБР РАН, доктором биологических наук, членом-корреспондентом РАН Васильевым Андреем Валентиновичем, указала, что диссертационное исследование является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной и актуальной задачи исследования особенностей циркадных ритмов и морфофункционального состояния печени при воздействии социально значимых факторов (хронической алкогольной интоксикации, постоянного освещения и их совместного действия).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в соответствующей сфере исследований, широкой известностью своими достижениями в рассматриваемой области медико-биологических наук.

Соискатель имеет 111 опубликованных работ (91 статья, 12 тезисов докладов, 7 патентов, 1 методические рекомендации), из них 16 по теме диссертации, из них 10 работ опубликованы в журналах, индексируемых Web of Science и Scopus и рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций, общим объемом 7 условных печатных листов, авторский вклад составил 80%.

Наиболее значимые работы:

1. The influence of constant lighting on the daily dynamics of some physiological parameters of male Wistar rats / Lyudmila Makartseva, Maria Kozlova, Sergey Kucher, David Areshidze // International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences. – 2020. – № 9(3). – С. 1-13.
2. The effect of chronic alcohol intoxication on the daily rhythm of some micromorphometric parameters of rat hepatocytes / Y.A. Kirillov, M.A. Kozlova, L.A. Makartseva, D.A. Areshidze, S.A. Kucher, I.A. Chernov and E.V.

Shtemplevskaya // Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences – 2021. – Т. 11. – № 1. – С. 1-12.

3. The effect of constant lighting on the organization of circadian rhythms of hematological parameters in wistar rats at age of 6 months / Lyudmila Makartseva, Maria Kozlova, Yuri Kirillov and David Areshidze // International Journal of pharmaceutical Sciences and Research – 2021. – Vol. 12(3): 1933-1938.

4. Influence of chronic alcoholic intoxication and lighting regime on karyometric and ploidometric parameters of hepatocytes of rats / Yuri A. Kirillov, Maria A. Kozlova, Lyudmila A. Makartseva, Igor A. Chernov, Evgeniya V. Shtemplevskaya, David A. Areshidze // Caryologia – 2021. – V.74(3). – pp. 45-51.

5. Morphofunctional State and Circadian Rhythms of the Liver under the Influence of Chronic Alcohol Intoxication and Constant Lighting / Kozlova, M.A.; Kirillov, Y.A.; Makartseva, L.A.; Chernov, I.; Areshidze, D.A. // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22. – №. 23. – 13007. – 27 pp.

6. Влияние хронической алкогольной интоксикации и постоянного освещения на морфофункциональное состояние печени / Ю.А. Кириллов, М.А. Козлова, Л.А. Макартева, И.А. Чернов, Д.А. Арешидзе // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2021. – Т. 10. – №. S4. – С. 68-76.

В диссертации не содержится некорректных заимствований и недостоверных сведений об опубликованных соискателем результатах исследований.

На автореферат поступили отзывы от:

1. Джандаровой Тамары Исмаиловны, доктора биологических наук, доцента, заведующей кафедрой анатомии и физиологии медико-биологического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет».

2. Кухарского Михаила Сергеевича, доктора биологических наук, старшего научного сотрудника Лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального Государственного бюджетного

учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» РАН.

3. Варфоломеева Владислава Николаевича, доктора биологических наук, сотрудника Центра скрининга и доклинических исследований Института проблем химической физики РАН.

4. Томиловой Евгении Александровны, доктора медицинских наук, доцента, профессора кафедры нормальной физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Все отзывы положительные, принципиальных критических замечаний не имеется. Отзывы содержат информацию об актуальности исследования, новизне полученных результатов и значимости их для науки и практики. Отмечается, что диссертационная работа выполнена в полном объеме на высоком научном уровне, выводы диссертации достоверны и полностью соответствуют поставленным задачам.

В отзыве Томиловой Евгении Александровны принципиальных замечаний к работе нет, однако в порядке научной дискуссии автору заданы вопросы и сделан ряд комментариев:

1. Известно, что алкогольная интоксикация у крыс моделируется путем принудительного выпаивания этанолом с использованием внутрижелудочных зондов. Насколько мне известно, крысы добровольно алкоголь не употребляют. Пожалуйста, поясните подробнее дизайн своего эксперимента.
2. Косинор-анализ суточной динамики площади ядер гепатоцитов проводился до или после эвтаназии?

Диссертант дал исчерпывающие ответы на эти комментарии.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**впервые описаны особенности нарушения ритмостаза на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях, морфофункциональных изменений в печени**

при отдельном и сочетанном действии двух исследованных хронодеструкторов; **показано**, что 21-дневное воздействие постоянного освещения приводит к развитию жировой дистрофии печени, тот же фактор в сочетании с хронической алкогольной интоксикацией вызывает развитие гепатита. Полученные данные **обогащают научную концепцию** о роли десинхронизирующих факторов в снижении адаптационных возможностей печени млекопитающих, способствующих развитию её алкогольного поражения; **предложено оригинальное суждение** о том, что как раздельное, так и совместное воздействие постоянного освещения и хронической алкогольной интоксикации вызывают существенные изменения в морфофункциональном состоянии печени лабораторных животных, проявляющиеся в нарушении её морфологической целостности и нарушении структуры циркадных ритмов этого органа.

**Впервые выявлено** хронодеструктивное влияние постоянного освещения и хронической алкогольной интоксикации на циркадную ритмику генов *Bmal1*, *Per2*, *p53*, *Ki-67* и *Adh5*, морфологических, биохимических и гематологических показателей, характеризующих морфофункциональное состояние печени крыс.

**Впервые доказано**, что 21-дневная хроническая алкогольная интоксикация в условиях постоянного освещения оказывает более выраженный хронодеструктивный эффект, проявляющийся в разрушении циркадной ритмичности большинства изученных параметров, а также вызывает более неблагоприятные морфофункциональные изменения в печени млекопитающих, чем отдельное воздействие данных факторов.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:** совокупность представленных в диссертационном исследовании данных **позволяет расширить существующие представления** о взаимосвязи морфологических проявлений дезадаптации с нарушением циркадной ритмики организма, разрушением и рассогласованием некоторых циркадных ритмов, что приводит к нарушению пространственно-временной интеграции биологических

процессов, протекающих в организме млекопитающих и существенному снижению его адаптационных возможностей.

**Применительно к проблематике диссертации** результативно (с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс существующих базовых методов исследования, включающий современные морфологические (гистологические, гистохимические, иммуногистохимические методы, световая и электронная микроскопия) и микроморфометрические, биохимические, гематологические методы, методы статистической обработки данных. Проведен подробный сравнительный морфологический, морфометрический, функциональный анализ состояния печени крыс и ее циркадных ритмов под воздействием хронической алкогольной интоксикации, постоянного освещения и совместного действия этих факторов; **изучены** различия адаптационного ответа печени на раздельное и совместное действие хронической алкогольной интоксикации и постоянного освещения; **установлено**, что в печени крыс под совместным воздействием хронической алкогольной интоксикации и постоянного освещения протекают процессы репаративной регенерации, в отличие от органов крыс других экспериментальных групп, где отмечается регенерация физиологическая; **впервые экспериментально подтверждена** роль десинхронизирующего действия хронической алкогольной интоксикации и постоянного освещения в развитии в течение 21-го дня комплекса выраженных морфофункциональных изменений в печени; **изложены доказательства** того, что, в то время как при независимом действии хронической алкогольной интоксикации и постоянного освещения наблюдается частично успешная адаптация организма млекопитающих к новым условиям среды, совместное воздействие исследованных хронодеструкторов приводит к срыву адаптации. Сделаны заключения, значимые для дальнейших исследований в области нарушений морфофункционального гомеостаза и ритмостаза органов и систем млекопитающих, в том числе человека.

Таким образом, представленное исследование по изучению влияния

хронической алкогольной интоксикации, постоянного освещения и их совместного действия на морфофункциональное состояние и циркадные ритмы печени в эксперименте является оригинальным и соответствует современному уровню.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:** данные, полученные в исследовании, расширяют представления о ритмостазе организма млекопитающих, как в норме, так и под действием изученных факторов. Они могут быть применены как в научно-практической деятельности, так и при разработке стратегий профилактики и лечения дизрегуляторных патологий такого рода у людей, вынужденных пребывать в неблагоприятных условиях окружающей среды. Данные, свидетельствующие о более выраженном гепатодеструктивном действии этанола при отсутствии выработки эпифизарного мелатонина, которая естественным образом провоцируется длительной темновой депривацией, позволяют предположить возможность коррекции установленных в исследовании нарушений морфофункционального гомеостаза и ритмостаза печени с помощью искусственного введения препаратов этого гормона, и открывают широкую перспективу для дальнейших исследований в данной области.

Основные результаты диссертационной работы **внедрены** в учебный процесс кафедры биохимии, молекулярной биологии и медицины медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», в научно-практическую деятельность Центра скрининга и доклинических исследований ФГБНУ «Институт проблем химической физики Российской академии наук» и в практическую деятельность ООО «Таргет-инжиниринг».

**Оценка достоверности результатов выявила, что:**

достоверность результатов обоснована достаточным количеством экспериментальных групп и объемом данных для каждой из них. В работе использованы современные, корректные, адекватные поставленным задачам



морфологические, биохимические, гематологические методы, а также методы статистического анализа данных. Результаты получены на сертифицированном оборудовании.

**Личный вклад соискателя** заключается в непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационной работы: в подборе и анализе литературы, отражающей современное состояние выбранной области исследования, в планировании и проведении экспериментов, статистической обработке данных, обобщении и анализе полученных результатов, подготовке публикаций по результатам выполненной работы и апробации её результатов на всероссийских и международных конференциях.

На заседании 20 сентября 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Козловой М.А. ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 10 докторов наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

за – 17, против – 3, недействительных бюллетеней – 1.

Заместитель председателя  
диссертационного совета, д.б.н.

Пигаревский П.В.

Ученый секретарь диссертационного  
совета, д.б.н., доцент

Алешина Г.М.

20 сентября 2022 г.

Подпись   
**Удостоверяется**  
Нач. отдела кадров ФГБНУ «ИЭМ»



