

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

**доктора медицинских наук, профессора, академика РАН, научного руководителя Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора Зайцевой Нины Владимировны на диссертационную работу Тышко Надежды Валерьевны «Разработка, развитие и опыт применения системы оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.02.01-гигиена**

### **Актуальность избранной темы диссертационного исследования для медицинской науки и практики**

Актуальность избранной темы диссертационного исследования определяется соответствием цели, задачам и основным направлениям государственной экономической политики в области обеспечения продовольственной безопасности Российской Федерации. Продовольственная безопасность является одним из главных направлений обеспечения национальной безопасности страны на средне- и долгосрочную перспективу. При этом стратегическая цель продовольственной безопасности достигается путем обеспечения населения страны безопасной сельскохозяйственной продукцией и продовольствием, в том числе, за счет устойчивого развития отечественного производства продовольствия и сырья, достаточного для обеспечения продовольственной независимости страны. Развитие отечественного агропромышленного комплекса сопровождается наращиванием объемов производства и реализации сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия, ростом удельного веса отечественной сельскохозяйственной продукции и продовольствия в общем объеме товарных ресурсов внутреннего рынка соответствующих продуктов. Это определяет поиск инновационных путей существенного повышения производительности в указанной сфере в условиях необходимости обеспечения отсутствия недопустимых рисков для здоровья населения. Наиболее проблемным в этом отношении является промышленное использование генно-инженерно-модифицированных сельскохозяйственных культур, представляющих собой пищевую продукцию принципиально нового типа, ранее не употреблявшуюся

человеком в пищу. Обеспечение безопасности такой продукции для здоровья относится к высоко актуальной задаче, требующей законодательного регулирования на государственном и надгосударственном уровнях, развития методологии в том числе, критериальных основ комплексной оценки ее безопасности. Обозначенный круг проблем определяет тему диссертационного исследования как высоко актуальную.

### **Достоверность и новизна результатов диссертации**

Достоверность результатов диссертации определяется использованием комплекса современных стандартизированных высокоинформативных методов, применительно к токсиколого-гигиеническим исследованиям: токсикологический эксперимент, методы изучения репродуктивной токсичности *in vivo*, разработанный автором метод модификации витаминно-минерального состава рациона экспериментальных животных для повышения их чувствительности к токсическим воздействиям, биохимические, морфологические, генотоксикологические, иммунологические, аллергологические и статистические методы. Объем экспериментального материала очень большой, глубоко раскрывает и полностью отражает все этапы работы, адекватен поставленным экспериментальным задачам. Исследования выполнены на весьма внушительном экспериментальном материале: в работе было использовано более 5 тысяч взрослых животных, более 10 тысяч крысят и более 5 тысяч плодов, применено более 100 различных показателей, позволивших получить исчерпывающую информацию о состоянии функций и систем экспериментальных животных в условиях токсических воздействий. Методы исследования и комплекс показателей для получения первичного научного материала, его обработки и анализа полностью адекватны цели работы, заключающейся в создании новой расширенной системы оценки генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения (ГМО), гарантирующей их безопасность для настоящего и будущего поколений. Хотелось бы подчеркнуть высокую аргументированность и логичное построение задач работы, решенных в ходе ее выполнения для достижения поставленной цели, которые включали проведение

поисковых исследований на базе моделей и нагрузочных проб, детальную съемку физиологических показателей, в том числе, репродуктивной функции животных, разработку нового рациона и его модификации и детальное обоснование новой расширенной системы оценки безопасности ГМО для настоящего и последующих поколений.

В ходе выполнения работы получены несомненно **новые научные результаты**, основными из которых являются: новая система расширенной оценки безопасности ГМО растительного происхождения, критерии для оценки показателей физиологического состояния животных, результаты исследования фертильной функции животных в условиях воздействия солей лития в составе специализированного рациона. Важной с научной точки зрения является предложенная автором модель повышения чувствительности животных к токсической нагрузке за счет снижения адаптационного потенциала. Резльтирующим научным итогом этого фрагмента работы явилось установление и в дальнейшем экспериментальное подтверждение патогенетически обоснованных пороговых значений содержания в рационе экспериментальных животных витаминов В1,В2,В3,В6, а также минеральных веществ ( $Fe^{3+}$  и  $Mg^{2+}$ ), обладающих таким эффектом.

Автором получены новые научные результаты при адекватном и грамотном выборе показателей апоптоза у экспериментальных животных в качестве чувствительного биомаркера, при этом установлены периоды онтогенеза, характеризующиеся минимальным и максимальным уровнями апоптоза и степень влияния рационов на его эффективность.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, подтверждается методологией исследования, принятой в гигиенических и токсикологических исследованиях и активно развитой автором. Так, наряду с традиционными токсикологическими и репротоксикологическими исследованиями *in vivo* автором были разработаны и

применены «нагрузочные модели», которые позволили детально изучить реакцию организма на направленные воздействия по широкому спектру негативных ответов, оцененных с использованием комплекса биохимических, морфологических, генотоксикологических, иммунологических, аллергологических методов исследования.

Задачи работы четко сформулированы, логично вытекают из поставленной цели и отражают все этапы исследования. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций обеспечена значительным объемом выполненных исследований, адекватностью примененных современных методов, оригинальностью планирования и алгоритмизации экспериментов, репрезентативностью и детальным анализом полученных данных, получением убедительных научных обоснований новой системы комплексных исследований по оценке безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения, масштабной апробацией разработанных методологических подходов и внедрением в практическую деятельность на национальном уровне и на территории ЕАЭС. Результаты диссертационной работы согласуются с данными отечественных и зарубежных исследований, при этом существенно развивают, дополняют и углубляют теоретические представления в области исследования механизмов формирования и обоснования уровней безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения.

Обоснованность результатов научного исследования и основных научных положений диссертации определяется полной согласованностью с методологией проведенного исследования и научными выводами. Выводы корректны, адекватны поставленной цели и задачам работы, отражают ее основные этапы и структуру, полностью обоснованы.

### **Ценность для науки и практики результатов работы**

*Научная ценность* диссертационной работы Н.В. Тышко заключается в усовершенствованной методологии научного гигиенического и

токсикологического анализа последствий воздействия генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения как факторов малой интенсивности, а также новых методических подходов к оценке их безопасности. Важно подчеркнуть комплексность проведенных исследований для нескольких сценарных условий, в которых исследованы ГМО растительного происхождения на фоне воздействия низких доз антропогенных контаминантов и направленного снижения адаптационного потенциала экспериментальных животных.

Высокую *научную ценность* представляют результаты исследований по формированию новой расширенной системы оценки безопасности ГМО в экспериментах на двух поколениях животных, что представляется весьма важным аспектом в получении убедительных данных по отсутствию риск-ассоциированных нарушений здоровья при воздействии изучаемых комплексов не только для нынешнего поколения, но и потомства. Детальная проработка и прозрачность методических приемов проведения исследований, тщательный анализ их результатов позволяют рассматривать выполненную работу как ценное научно обоснованное системное руководство для проведения подобного вида работ.

Результаты диссертационного исследования Н.В.Тышко имеют высокую *практическую значимость*, заключающуюся в интеграции новой системы оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения в практику работы Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и акцептированию для госрегистрации ГМО (5 линий сои, в том числе 1 с комбинированными признаками и 5 линий кукурузы) в странах ЕАЭС. Результаты детальных токсиколого-гигиенических исследований 10 новых ГМО позволили осуществить их государственную регистрацию, сведения внесены в Реестр свидетельств о государственной регистрации и разрешены для производства, реализации и использования в пищевой промышленности на территории ЕАЭС. По результатам выполненных исследований разработаны 8 методических документов,

обобщающих опыт проведения токсикологических исследований и гигиенических оценок и предназначенных для практического использования. Высокую практическую значимость работы подтверждает внедрение результатов исследований в виде методических указаний, касающихся вопросов обоснования порядков и организации контроля за пищевой продукцией с ГМО, медико-биологической оценки их безопасности, валидизированных методов идентификации и количественного определения в пищевых продуктах генно-инженерно-модифицированных организмов, полученных на основе новых биотехнологий. Кроме того, результаты работы закреплены Постановлением Правительства Российской Федерации и Федеральным законом в части совершенствования государственного регулирования в области генно-инженерной деятельности и свидетельствами о государственной регистрации ГМО. Результаты исследований включены в программу дополнительного профессионального образования по теме «Молекулярно-генетические методы исследований продуктов питания и продовольственного сырья» ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора.

#### **Оценка содержания работы, ее завершенность**

Диссертация Н.В. Тышко оформлена в полном соответствии с предъявляемыми требованиями, изложена на 239 страницах основного текста (до списка литературы) и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, внедрения в практику, списка сокращений, списка цитированной литературы. Работа иллюстрирована 61 рисунком, и 152 таблицами.

*Во введении* автор рассматривает актуальность темы исследования, дает оценку степени ее разработанности, обосновывает цель и основные задачи работы, приводит характеристику новизны, теоретической и практической значимости, методологии и методов выполненных исследований, личного вклада, основных положений, выносимых на защиту, степени достоверности и апробации результатов.

*Обзор литературы* содержит глубокое обобщение 415 отечественных и зарубежных источников, содержащих данные по методам и способам модификации растительного генома, технологиям получения генно-инженерно-модифицированных организмов, их мировому производству, преимуществам и возможным рискам. Детально проанализированы подходы, используемые при оценке безопасности ГМО растительного происхождения, в аспекте мирового и отечественного опыта. На основе сопоставительного анализа имеющихся данных, степени изученности вопроса и решения проблемы убедительно аргументируется выбор направления исследований, и актуальность создания новой расширенной системы оценки безопасности ГМО.

*Экспериментальная часть* описана на 171 страницах текста, детально структурирована в рамках двух крупных разделов: «Материалы и методы исследования» и «Результаты собственных исследований и их обсуждение».

В разделе «Материалы и методы исследования» приведена детальная характеристика экспериментальных животных, количество использованных особей в токсикологических и генотоксикологических экспериментах. В соответствии с поставленными целями работы, адекватно составлены и оптимизированы экспериментальные рационы, включающие исследованные линии ГМО, и контрольный общевиварный. Оценка степени фрагментации ДНК и расчет индекса апоптоза был выполнен методом щелочного гель-электрофореза изолированных клеток (ДНК-комет). Дизайн эксперимента тщательно детализирован по длительности исследования, возрасту, наблюдаемым и измеряемым показателям общего состояния и репродуктивной функции животных, в том числе с учетом сезонности.

Все эксперименты выполнены на основе правил надлежащей лабораторной практики, моделирование рационов выполнено на принципах их изокалорийности и идентичности химического состава, что определяет сопоставимость результатов, полученных на всех этапах эксперимента.

В разделе «Результаты собственных исследований и их обсуждение» исчерпывающе представлены материалы по формированию базы данных

физиологических значений показателей, определяемых при токсиколого-гигиенических исследованиях генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения. Установлены интервалы нормальных значений (физиологических колебаний) для каждого из изученных показателей и сформирована база данных, позволяющая обеспечить объективный анализ и интерпретацию результатов исследований в рамках токсиколого-гигиенической оценки безопасности ГМО.

Автором выполнена оптимизация состава экспериментальных рационов для крыс, в том числе состав синтетического рациона для взрослых и растущих лабораторных животных, а также состав специализированного рациона для экспериментов по изучению репродуктивной функции.

В работе дана сравнительная характеристика влияния состава экспериментальных рационов на рост и развитие крыс. При этом на основании ранее выполненных исследований было сделано предположение о *ведущей роли солей лития* в формировании изменений со стороны углеводного обмена и снижении репродуктивной функции животных. В последующих углубленных экспериментах были подтверждены и уточнены эффекты негативных воздействий лития в виде снижения интенсивности метаболизма и фертильности экспериментальных животных. Это позволило дифференцированно определить область применения лития в модельных экспериментах и обосновать целесообразность его использования в соответствии с патогенетическими особенностями.

С учетом возможных сценариев одновременных различных по своей природе воздействий автором в рамках эксперимента проведено изучение репродуктивной функции и развития потомства крыс с анализом влияния *фактора сезонности* на функцию репродуктивной системы крыс, пренатальное и постнатальное развитие потомства с выявлением *наиболее чувствительных* показателей репродуктивной функции крыс и оценкой развития потомства в поколениях крыс. Установлено, что потомство, рожденное в осенне-зимний период, характеризовалось снижением выживаемости с 6-го по 25-й дни жизни без значимых различий между группами



лабораторных животных. Использованная автором экспериментальная модель позволила выявить наиболее чувствительные показатели, свидетельствующие о репродуктивной токсичности исследуемого объекта: это морфо-функциональные критерии постнатального онтогенеза потомства (динамика зоометрических показателей, физическое развитие), традиционно применяемые при оценке репродуктивной функции.

Детальные исследования были выполнены по определению референсного контроля, в рамках которых на двух поколениях животных были установлены важные для последующих оценок статистически обоснованные диапазоны колебания наблюдаемых показателей.

Очень интересным разделом диссертации является *разработка моделей снижения адаптационного потенциала с использованием токсических и алиментарных факторов*. Модели снижения адаптационного потенциала с использованием токсических и алиментарных факторов разработаны автором в экспериментах с включением модификации состава рационов для снижения адаптационного потенциала крыс, а также модели снижения адаптационного потенциала крыс в условиях интоксикации кадмием и глифосатом. Предложенная автором модификация витаминно-минерального состава рационов может быть использована в качестве модели снижения адаптационного потенциала крыс в токсикологических исследованиях при изучении объектов с неизвестной токсичностью, в частности, новых видов пищевой продукции. Автором, на примере воздействия солей кадмия, подтверждено снижение адаптационного потенциала и формирование у крыс гипо-, нормо- и гиперчувствительности к воздействию токсических факторов, также научно обоснован и сформирован проект перечня физиолого-биохимических параметров (биомаркеров), реагирующих на токсическое воздействие, включающий показатели эритроцитарного и тромбоцитарного профиля крови, показатели системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов крови и печени. Автором установлено, что введение глифосата на фоне сниженной обеспеченности витаминами группы В, солями Fe и Mg приводило к

значительным изменениям показателей репродуктивной функции, тогда как на фоне нормальной обеспеченности эссенциальными веществами токсическое действие глифосата не отмечалось.

Проведенное изучение *активности апоптоза* при токсиколого-гигиенических исследованиях (в различных органах крыс в онтогенезе; в печени крыс в условиях интоксикации кадмием и четыреххлористым углеродом) позволило автору сделать вывод о необходимости оценки данного показателя в сочетании с изучением активности ферментов метаболизма ксенобиотиков, ферментов лизосом, ферментов антиоксидантной системы, а также процессов перекисного окисления липидов.

Существенную научную и практическую значимость представляет разработанная автором *система оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения*: с изменением одного признака; с комбинированными признаками. Предложенный подход создает для производителей условия, максимально благоприятствующие выходу в правовое поле и обеспечивающие возможность регулирования обращения ГМО с комбинированными признаками, полученными методом гибридизации.

Применение разработанной автором *новой системы* позволило на принципиально более глубоком уровне *выполнить оценку безопасности* генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения для токсиколого-гигиенической оценки сои линий FG72, MON87701, SYHT0H2, MON87708; кукурузы линий 5307, MON89034, 1507, MZHG0JG, DAS-40278-9; сои с комбинированными признаками линии MON87701?MON89788 с проведением токсикологических, генотоксикологических и аллергологических исследований. Так например, автором по результатам токсикологических, генотоксикологических, аллергологических исследований кукурузы линий 5307, MON89034, 1507, MZHG0JG, DAS-40278-9 и их традиционных аналогов, во время которых были изучены репродуктивная функция, пре- и постнатальное развитие потомства, интегральные, гематологические, биохимические, морфологические показатели, а также системные биомаркеры; целостность структуры ДНК и

уровень хромосомных aberrаций; модель системной анафилаксии и показатели тяжести активного анафилактического шока и интенсивность гуморального иммунного ответа не выявили какого-либо токсического, генотоксического и аллергенного действия ГМ кукурузы, что, наряду с данными экспертной оценки представленных материалов и анализа композиционной эквивалентности ГМО и их традиционных аналогов, позволило автору рекомендовать их для государственной регистрации в Российской Федерации.

*В заключении* автор обобщает результаты, полученные в ходе диссертационного исследования. *Выводы* исследования структурированы и соответствуют поставленным задачам. Практические рекомендации содержат конкретные мероприятия для использования результатов диссертации в гигиенической практике.

В целом, материал диссертационного исследования изложен последовательно и логично. Решение всех поставленных задач, аргументированность и обоснованность выводов работы, последовательно вытекающих из представленных данных, позволяют считать диссертацию завершённой.

#### **Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати**

Материалы диссертации полностью отражены в научных публикациях. Различные аспекты проведенных исследований опубликованы в 107 работах, в том числе 33 статьи в научных изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, 46 публикаций входят в базу данных "Web of Science" или «Scopus», и 5 монографиях. Результаты исследований широко представлены на конгрессах, съездах и конференциях международного, всероссийского и регионального уровней.

#### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат отражает структуру диссертации и ее основное содержание, оформлен в соответствии с требованиями.

### Замечания по работе

Принципиальных замечаний по работе нет.

В порядке дискуссии хотелось бы задать автору следующие вопросы:

- один из разделов главы "Результаты собственных исследований" посвящен разработке и апробации моделей снижения адаптационного потенциала или "нагрузочных проб", и данные, полученные в этих исследованиях, характеризуют предложенную модель как весьма перспективную. Каковы Ваши рекомендации по использованию этой модели: следует ли включить ее в базовый набор токсиколого-гигиенических исследований, или должны быть определенные критерии для изучаемого объекта или полученных первичных результатов экспериментов, которые обосновывают необходимость использования модели?
- в Вашей работе Вы неоднократно отмечаете, что в настоящее время на продовольственный рынок уже выходят ГМО третьего поколения, на очереди растения, полученные методами геномного редактирования. По Вашему мнению, каковы риски от новых поколений ГМО: сходны ли они с потенциальными рисками, приписываемыми первым ГМО, или условное "новое поколение" влечет за собой "новые риски"?

### Заключение

Диссертационная работа Тышко Надежды Валерьевны «Разработка, развитие и опыт применения системы оценки безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения», представленная к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.02.01-Гигиена, является самостоятельной, завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно классифицировать как качественно новый уровень решения проблемы гигиенической безопасности пищевой продукции, основанный на разработке и совершенствовании методологии токсикологических экспериментов *in vivo*, направленных на выявление и оценку возможных неблагоприятных эффектов

ГМО. По своей актуальности, новизне, объему выполненных исследований, практической значимости диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации N 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.02.01 - Гигиена.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор  
академик РАН,  
Научный руководитель  
Федерального бюджетного учреждения науки  
"Федеральный научный центр медико-  
профилактических технологий управления  
рисками здоровью населения"



Зайцева Нина Владимировна

30.10.2019

Подпись Н.В. Зайцевой заверяю  
Ученый секретарь ФБУН ФНЦ  
медико-профилактических технологий  
управления рисками здоровью населения», Д.М.Н.



П.З. Шур

Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.  
Адрес: Монастырская ул., д. 82, Пермь, 614045; тел/факс: (342) 237 25 34, e-mail: [root@fcrisk.ru](mailto:root@fcrisk.ru), <http://www.fcrisk.ru>