

Отзыв официального оппонента

доктора биологических наук Глотова Андрея Сергеевича на диссертационную работу Осечкиной Натальи Сергеевны на тему «Прогнозирование тяжести интоксикации этанолом на основе генетических маркеров ГАМК_A-рецептора», представленную к публичной защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 – токсикология.

Актуальность темы выполненной работы

Изучение наследственных причин экзогенных интоксикаций, которые способны изменять возбудимость и функции центральной нервной системы, является, актуальной научно-практической задачей. К числу агентов подобных интоксикаций относится широкой круг токсичных веществ, включая этиловый спирт и его суррогаты. Как его однократное (острое), так и длительное (хроническое) употребление приводит к развитию сложных патологических процессов в разных органах и тканях организма, наиболее разрушительно влияя на ЦНС.

Известно, что этиловый спирт оказывает действие на белки клеточных мембран. К числу таких мембранных белков, относится ионотропный ГАМК_A-рецептор – компонент ГАМК-ергической тормозной нейромедиаторной системы. Однако точные механизмы зависимости степени тяжести депримирующего действия этанола на нервную систему от особенностей ГАМК_A-рецептора пока остаются малоизученными.

Предполагают, что определенное значение в глубине депримирующего действия этанола, может быть связано с полиморфизмом генов ГАМК_A-рецептора, и уровнем их экспрессии. В связи с этим, комплексное изучение фенотипа и генотипического профиля организма с целью оценки риска развития тяжелых форм депримирующего действия этанола и выявления признаков интоксикации на раннем этапе, представляется актуальной и своевременной задачей.

Научная новизна работы

Один из главных факторов новизны и значимости данной работы в том, что проведена комплексная и последовательная оценка риска острой и хронической интоксикации этанолом.

В работе впервые установлено, что острое отравление приводит к увеличению экспрессии генов *Gabra1*, *Gabra4* и *Gabrb1* в головном мозге крыс, перенесших острую интоксикацию без предшествующей алкоголизации, и к увеличению уровня экспрессии генов *Gabra5* и *Gabrb1* в головном мозге предварительно алкоголизированных крыс. Показано, что после хронической алкоголизации этанолом происходит достоверное снижение уровня экспрессии гена *Gabrb1* в головном мозге крыс. Установлено, что утяжеление клиники интоксикации у крыс, перенесших острое отравление этанолом, связано со снижением уровней экспрессии

генов *Gabra2* и *Gabrb1*, а у предварительно алкоголизованных крыс – с уменьшением уровня экспрессии гена *Gabra4*.

Обнаружено, что варианты rs8168342, rs198286814, rs198837638 гена *Gabra2* и rs13456854, rs13456852 и rs13456851 гена *Gabrb1* определяют уровень экспрессии гена в головном мозге интактных крыс; варианты rs13456854, rs13456852, rs13456851 гена *Gabrb1* определяют уровень экспрессии гена в головном мозге предварительно алкоголизованных крыс; а rs107127945 и rs197587817 гена *Gabra1* - уровень экспрессии гена в головном мозге предварительно алкоголизованных животных после острого отравления этанолом.

Впервые установлено, что генотип С/Т по гену *Gabra2* определяет «тяжелую степень интоксикации» спустя 8 часов после острого отравления этанолом. К факторам повышенного риска гибели крыс при отравлении этанолом относят генотип А/Т (rs10509624) по гену *Gabra3* (спустя 3 часа) и генотипы Т/Т, G/Т (rs197596713) по гену *Gabra4* (спустя 8 часов).

Теоретическая и научно-практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы высокая. Она заключается, прежде всего, в том, что выявлены причины изменения экспрессии генов, кодирующих субъединицы ГАМК_A-рецептора, под влиянием острого и хронического воздействия этанолом, которые позволили расширить представления о депримирующем действии токсиканта на ГАМК-эргическую нейромедиаторную систему. Кроме того, в работе установлено распределение частот генотипов изучаемых полиморфизмов и выявлено влияние некоторых аллельных вариантов на уровень экспрессии соответствующих генов у интактных крыс, а также предварительно алкоголизованных животных на фоне острого отравления этанолом и без него.

Работа имеет и определенную перспективу практического внедрения, связанную с трансляцией полученных результатов в персонализированную медицину.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Диссертационная работа Осечкиной Н.С. выполнена на достаточном количестве экспериментальных животных (155 особей) с формированием адекватных групп сравнения и контроля. Используются современные молекулярно-генетические и лабораторные методы исследования; необходимые поведенческие и токсикологические модели; применены адекватные методы статистической обработки полученных данных.

Выводы и положения, выносимые на защиту, основаны на статистически достоверных результатах. Нет никаких сомнений в научной значимости и ценности проведенного комплексного исследования.

Основные результаты исследования опубликованы в 8-ми научных работах (7 статей), из которых 7 являются рецензируемыми научными

изданиями, рекомендованных ВАК. Статей, индексируемых в международных базах Web of Science или Scopus, нет.

Структура работы

Диссертационная работа построена по традиционной схеме с небольшими вариациями и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследований и их обсуждение, представленные в виде двух глав, заключение и выводы, практические рекомендации, словарь терминов, список сокращений и условных обозначений, список литературы и приложение. Текст изложен на 173 страницах машинописного текста, иллюстрирован 31 рисунком, содержит 26 таблиц, а также приложение к диссертации с 4-мя таблицами. Список литературы включает 208 источников, из них 100 отечественных и 108 зарубежных авторов.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, показана научная новизна исследования, сформулированы цель и задачи работы, представлены теоретическая и практическая значимость, а также положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы составлен полно, логично и дает представление о современных направлениях при изучении генетических особенностей, определяющих различия в эффектах воздействия этанола на организм человека. Он разделен на 3 подглавы, в которых представлено описание основных типов эффектов и поражений, которые возникают при острой и хронической интоксикации, приведены молекулярно-генетические маркеры, определяющие индивидуальные особенности организма при воздействии этанолом (в большинстве своем основанные на изучении генетики человека), дано описание генетических особенностей ГАМК-ергической системы. Но было бы важно все описание, прежде всего, соотносить с лабораторными животными.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно описаны экспериментальные группы животных, их разделение на подгруппы, в зависимости от доз и времени применения этанола, подробно приведен метод оценки токсичности воздействия спирта на крыс и оценка состояния животного. В работе тщательно описаны все процедуры и молекулярные методы, необходимые для проведения оценки экспрессии генов и детекции генетического полиморфизма. Применение статистических методов адекватно поставленным экспериментам.

В последующих двух главах представлены результаты и обсуждение полученных экспериментов.

В главе 3 «Изучение профиля экспрессии генов, кодирующих отдельные субъединицы ГАМК_A-рецептора, при острой и хронической интоксикации этанолом» представлены соответствующие результаты. Дана часть информации, имеющая отношение к обзору литературы. Результаты, приведенные в таблицах недостаточно описаны в тексте (например, табл. 8,9). Очень нагляден рисунок 5, на котором демонстрируется эффект

(состояние) от воздействия алкоголя на организм крыс, перенесших острое отравление на фоне предварительной алкоголизации. Приведено изучение влияния острой и хронической интоксикации этанолом на профиль (уровень) экспрессии генов *Gabra1*, *Gabra2*, *Gabra3*, *Gabra4*, *Gabra5*, *Gabra6* и *Gabrb1* в образцах тканей лабораторных животных, в том числе в зависимости от тяжести депримирующего действия этанола на нервную систему. Данные подразделы Главы написаны подробно и емко.

В главе 4 «Экспериментальное исследование влияния полиморфизмов генов, кодирующих отдельные субъединицы ГАМК_A-рецептора, на тяжесть угнетения ЦНС» представлены соответствующие результаты. Глава написано емко и содержательно. Однако в ней значительно преобладает описание полученных результатов над их обсуждением.

В «Заключении» соискатель подробно приводит анализ основных результатов своего исследования (которых не хватало в предыдущих Главах), изложив ключевые положения диссертационной работы.

Выводы следуют из полученных результатов, обоснованы, логичны и соответствуют поставленной цели и задачам исследования.

Практические рекомендации соответствуют полученным результатам.

В целом, серьезных замечаний по работе нет. Соискатель учел в настоящей работе большинство ранее высказанных замечаний и критики. Однако есть несколько небольших комментариев и вопросов.

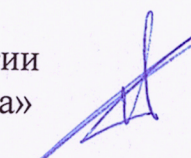
- 1) К сожалению, автор в обзоре литературы в разделе 1.2 приводит данные, в основном имеющие отношение к человеку. Известно ли соискателю информация об аллельной полиморфизме у крыс и мышей, определяющих чувствительность или устойчивость к алкоголю?
- 2) Использовать выражение «полиморфизмы» не корректно. 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).

Заключение

Диссертация Осечкиной Натальи Сергеевны на тему «Прогнозирование тяжести интоксикации этанолом на основе генетических маркеров ГАМК_A-рецептора» является законченной научно-квалификационной работой. Диссертационная работа полностью отвечает требованиям п. 9, 10, 11, 13 и 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), а

ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 – Токсикология (биологические науки).

Официальный оппонент
доктор биологических наук,
руководитель отдела геномной
медицины ФГБНУ «Научно-
исследовательский
институт акушерства, гинекологии
и репродуктологии им. Д.О. Отта»


Глотов Андрей Сергеевич

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта».

Адрес: 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3

Телефон: +78126795551

Адрес сайта: <https://ott.ru/>

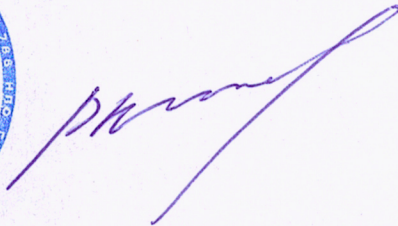
E-mail: anglotov@mail.ru

Согласен на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных при работе диссертационного совета Д 208.030.01 по диссертационной работе Осечкиной Натальи Сергеевны на тему «Прогнозирование тяжести интоксикации этанолом на основе генетических маркеров ГАМК_A-рецептора», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 – токсикология.

«15» 02 2021 г.

Подлинность подписи А.С. Глотова заверяю
Ученый секретарь Федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Научно-исследовательский
институт акушерства, гинекологии и
репродуктологии им. Д.О. Отта»,
кандидат медицинских наук




Капустин Роман Викторович

Адрес: 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», <https://ott.ru/>, тел. +7 (812) 325-32-20, E-mail: iagmail@ott.ru.