



ФМБА РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки
«Институт токсикологии
Федерального медико-биологического агентства»
(ФГБУН ИТ ФМБА России)
Бехтерева ул., д. 1, Санкт-Петербург, 192019
Тел./факс (812) 365-06-80
e-mail: institute@toxicology.ru; http://www.toxicology.ru
ОКПО 01898061; ОГРН 1037825009090;
ИНН/КПП 7811057064/781101001



УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБУН ИТ ФМБА России

М.Б. Иванов

2019 г.

№ _____
от _____
На № _____

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»

Диссертация Осечкиной Н.С. «Прогнозирование тяжести интоксикации этанолом на основе генетических маркеров ГАМК_A-рецептора» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России).

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».

В 2011 году окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева» по специальности «Биотехнология».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов (философия и английский язык) №73 выдано в 2013 г. Федеральным государственным унитарным предприятием «Центральный научно-исследовательский институт химии и механики» (ФГУП «ЦНИИХМ»). Справка об обучении № 01-05/304 по

Вх. № 92
«11» 09 2020
ФГБУН ИТ ФМБА Росс

направлению 30.06.01 Фундаментальная медицина и сдаче кандидатского экзамена по научной специальности 14.03.04 - токсикология (биологические науки) выдана 21.03.2019 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства».

Научный руководитель: доктор химических наук, доцент, главный научный сотрудник Федерального государственного унитарного предприятия «Научный центр «Сигнал» – Назаров Георгий Валерьевич.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Осечкиной Натальи Сергеевны является научно-исследовательской работой, посвященной актуальной проблеме прогнозирования тяжести интоксикации этанолом на основе молекулярно-генетических маркеров компонента ГАМК-ергической нейромедиаторной системы ГАМК_A-рецептора.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Диссертационная работа в полном объеме выполнена диссертантом в лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России).

На основе лично проведенного теоретического анализа информации по рассматриваемой теме автором сформулированы цель и содержание диссертационной работы, определены и выполнены лабораторно-инструментальные исследования. Самостоятельно проанализированы результаты генетического исследования, сформулированы выводы и положения, выносимые на защиту, подготовлены статьи, оформлена диссертационная работа.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность полученных результатов определяется достаточным количеством экспериментальных животных и формированием групп сравнения и контроля; использованием современных высокоинформативных молекулярно-генетических лабораторных методов исследования; адекватными поведенческими и токсикологическими моделями и методами исследования, применением

высокотехнологичного сертифицированного оборудования для изучения генетических особенностей; применением адекватных методов статистической обработки полученных данных.

Научная новизна проведенных исследований

Научная новизна исследований заключается в следующем: исследовано влияние острой и хронической интоксикации этанолом на профиль (уровень) экспрессии генов, кодирующих α_1 -, α_2 -, α_3 -, α_4 -, α_5 -, α_6 - и β_1 -субъединицы ГАМК_A-рецептора крыс (*Gabra1*, *Gabra2*, *Gabra3*, *Gabra4*, *Gabra5*, *Gabra6* и *Gabrb1*) в различных органах и крови лабораторных животных. Установлено, что острое отравление этанолом приводит к увеличению экспрессии генов *Gabra1*, *Gabra4* и *Gabrb1* в головном мозге крыс, перенесших острую интоксикацию без предшествующей алкоголизации, и к увеличению уровня экспрессии (УЭ) генов *Gabra5* и *Gabrb1* в головном мозге предварительно алкоголизованных крыс. Показано, что после хронической алкоголизации этанолом происходит достоверное снижение уровня экспрессии гена *Gabrb1* в головном мозге крыс.

Впервые получены данные о связи уровня экспрессии генов, кодирующих отдельные субъединицы ГАМК_A-рецептора, со степенью депримирующего действия этанола (спустя 8 часов после введения этанола в дозе 0,8 ЛД₅₀): 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*.

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.

Впервые установлена зависимость степени интоксикации крыс, перенесших острое отравление этанолом, от генотипа *Gabra2* rs105733011. Показано, что наличие у крыс гетерозиготного генотипа СТ (содержащего аллель С – цитозин, аллель Т - тимин) определяет «тяжелую степень интоксикации» спустя 8 часов

после острого отравления этанолом.

На модели предварительно алкоголизованных крыс выявлены факторы повышенного риска гибели крыс при отравлении этанолом: генотип АТ (содержащего аллель А – аденин, аллель Т - тимин) полиморфизма rs10509624 гена *Gabra3* (спустя 3 часа) и генотипы ТТ (содержащего аллель Т – тимин, аллель Т - тимин), GT (содержащего аллель G – гуанин, аллель Т - тимин) полиморфизма rs197596713 гена *Gabra4* (спустя 8 часов).

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявленные закономерности изменения экспрессии генов, кодирующих субъединицы ГАМК_A-рецептора, под влиянием острого и хронического воздействия этанолом позволили расширить теоретические представления о депримирующем действии токсиканта на ГАМК-ергическую нейромедиаторную систему. Полученные данные о связи уровня экспрессии исследуемых генов со степенью тяжести депримирующего воздействия этанола на нервную систему крыс как на фоне предварительной алкоголизации, так и без нее свидетельствуют о целесообразности использования наследственных факторов ГАМК_A-рецептора для определения различных отклонений нервной системы, которые возникают при интоксикации этанолом.

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.

Выявленные маркеры ГАМК_A-рецептора, определяющие степень интоксикации крыс, перенесших острое отравление этанолом, и факторы повышенного риска гибели предварительно алкоголизованных крыс при отравлении этанолом используются в практической научно-исследовательской деятельности ФГБУН ИТ ФМБА России при проведении работ по оценке тяжести неврологических нарушений после отравления этанолом, а также внедрены в практику работы лабораторий научно-исследовательских организаций ФМБА России и Министерства обороны РФ.

**Полнота изложения материалов диссертации в работах,
опубликованных соискателем**

Результаты проведённых исследований были доложены и обсуждены на всероссийских конференциях. По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 7 в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Статьи в научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ

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. Бабкин, А. В. Ассоциация полиморфных вариантов гена *Vche* с активностью бутирилхолинэстеразы крыс после отравления малатионом / А. В. Бабкин, Н. С. Осечкина, И. С. Бердинских [и др.] // Токсикологический вестник. – 2014. – № 5 (128). – С. 16-20.
4. Бердинских, И. С. Генетические особенности, определяющие различный уровень экспрессии гена *OPRM1* у крыс после воздействия N-(1-фенэтил-4-пиперидил)-пропионанилида» / И. С. Бердинских, Н. С. Осечкина, А. В. Бабкин [и др.] // Токсикологический вестник. – 2015. – № 3 (132). – С. 49-53.
5. Бабкин, А. В. Изучение влияния атропина на экспрессию генов *Ache* и *Vche* при отравлении крыс малатионом / А. В. Бабкин, Н. С. Осечкина, И. С. Бердинских [и др.] // Токсикологический вестник. – 2015. – № 6 (135). – С. 22-26.
6. Осечкина, Н. С. Оценка уровня экспрессии генов, кодирующих ГАМКА-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.
7. 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.

Соответствие научной специальности

Диссертация Осечкиной Н.С. «Прогнозирование тяжести интоксикации этанолом на основе генетических маркеров ГАМК_A-рецептора» посвящена актуальным проблемам токсикологии. Содержание диссертационной работы полностью соответствует специальности 14.03.04 – токсикология.

Диссертационная работа «Прогнозирование тяжести интоксикации этанолом на основе генетических маркеров ГАМК_A-рецептора» Осечкиной Натальи Сергеевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 – токсикология.

Заключение принято на заседании научно-методического совета ФГБУН ИТ ФМБА России. Присутствовало на заседании 16 человек. Результаты голосования: «за» – 16 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 5 от «24» октября 2019 г.

Председатель научно-методического совета
ФГБУН ИТ ФМБА России
доктор медицинских наук, доцент



В.Л. Рейнюк