

**Резюме проекта (ПНИ), выполняемого/выполненного
в рамках ФЦП
«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-
технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы»
<по этапу №1/итоговое>**

Номер Соглашения о предоставлении субсидии/ государственного контракта:

Соглашение № 14.604.21.0142

Тема: «Использование показателей активности апоптоза в качестве биомаркеров воздействия генно-инженерно-модифицированных организмов на здоровье млекопитающих»

Приоритетное направление: Науки о жизни

Критическая технология: Технологии мониторинга и прогнозирования состояния окружающей среды, предотвращения и ликвидации ее загрязнения

Период выполнения: 05.11.2014-31.12.2014

Плановое финансирование проекта: 6,25 млн. руб.

Бюджетные средства 5,00 млн. руб.,

Внебюджетные средства 1,25 млн. руб.

Получатель субсидии: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт питания» (ФГБНУ «НИИ питания»)

Индустриальный партнер: нет

Ключевые слова: ГМО; генно-инженерно-модифицированные организмы; безопасность; токсикологические исследования; биомаркеры; апоптоз

1. Цель прикладного научного исследования

Целью настоящей работы являлась оценка негативных последствий для здоровья человека, связанных с потреблением ГМО. Разработка научно-методической модели оценки токсичности генно-инженерно-модифицированных организмов (ГМО) с использованием биомаркеров активности апоптоза. Данная модель будет интегрирована в действующую в настоящее время в Российской Федерации систему оценки безопасности ГМО растительного происхождения.

Отличительной чертой российской системы оценки безопасности ГМО является использование показателей (системных биомаркеров), отражающих уровень адаптации организма к окружающей среде и обладающих высокой чувствительностью к чужеродному воздействию. Особое внимание уделяется системам, осуществляющим защиту организма от воздействия токсичных соединений экзогенного и эндогенного происхождения: системе ферментов метаболизма ксенобиотиков, системе антиоксидантной защиты, системе регуляции апоптоза. Дальнейшее совершенствование системы оценки безопасности ГМО направлено на расширение перечня системных биомаркеров: поскольку апоптоз является эволюционно-консервативным системным процессом, обеспечивающим поддержание гомеостаза на протяжении всего периода жизни организма, есть все основания полагать, что определение активности апоптоза может быть эффективно использовано в исследованиях, направленных на изучение влияния экзогенных воздействий различной природы, в том числе, низкотоксичных объектов.

2. Основные результаты проекта

- **Определение границы физиологической нормы активности апоптоза у животных разного пола и возраста**

Отбор материала для исследований (печени, почек, тимуса) – для исследований методом ДНК-комет, (тимуса) – для исследований методом проточной цитометрии, проводили у самцов и самок на 20-й день пренатального развития, 2-й, 15-й и 30-й день жизни.

Для определения границы физиологической нормы активности апоптоза все индивидуальные данные, полученные в эксперименте *in vivo*, были обработаны с помощью ящичных диаграмм. Показано, что 50% значений индекса апоптоза в печени здоровых самок крыс линии Вистар на 20-й день пренатального развития, 2-й, 15-й и 30-й дни жизни укладывалось в диапазон 1,03-1,40; 0,85-1,38; 0,75-0,80; 0,65-1,08; в почках – в диапазон 1,09-1,30; 1,00-1,35; 0,63-0,93; 0,75-0,85; в тимусе – в

диапазон 1,29-1,56; 0,83-1,30; 0,70-0,80; 0,65-0,94; соответственно; 50% значений индекса апоптоза в печени здоровых самцов крыс линии Вистар на 20-й день пренатального развития, 2-й, 15-й и 30-й, дни жизни укладывалось в диапазон 1,10-1,48; 1,13-1,38; 0,75-1,00; 0,66-0,93; в почках – в диапазон 1,26-1,50; 0,93-1,30; 0,60-1,00; 0,70-0,98; в тимусе 1,19-1,49; 0,75-1,13; 0,65-0,88; 0,69-0,93, соответственно. Ранее в аналогичных экспериментах, проведенных в ФГБНУ «НИИ питания», с целью оценки активности апоптоза у самцов и самок крыс линии Вистар в возрасте 60, 90 и 120 дней было показано, что 50% значений индекса апоптоза в печени здоровых самок крыс линии Вистар на 60-й, 90-й, 120-й дни жизни укладывалось в диапазон 0,68-1,08; 0,88-1,20; 0,66-1,03, в почках – в диапазон 0,70-0,95; 1,18-1,45; 0,80-1,09, в тимусе – в диапазон 0,68-0,98; 1,13-1,25; 0,63-1,00, соответственно; 50% значений индекса апоптоза в печени здоровых самцов крыс линии Вистар на 60-й, 90-й, 120-й дни жизни укладывалось в диапазон 0,63-0,93; 0,85-1,23; 0,70-0,95, в почках – в диапазон 0,55-0,93; 0,85-1,23; 0,70-1,10, в тимусе 0,75-1,08; 1,10-1,25; 0,71-0,94, соответственно.

50% Значений уровня апоптоз-положительных клеток в тимусе здоровых самок крыс линии Вистар на 20-й день пренатального развития, 2-й и 30-й дни жизни укладывалось в диапазон 6,45-9,28; 4,30-5,28; 0,98-1,33; 50% значений уровня апоптоз-положительных клеток в тимусе здоровых самцов на 20-й день пренатального развития, 2-й, 15-й и 30-й дни жизни укладывалось в диапазон 5,60-9,50; 4,60-5,20; 3,48-4,15; 1,20-1,55, соответственно. Согласно полученным ранее данным, 50% значений уровня апоптоз-положительных клеток в тимусе здоровых самок крыс линии Вистар на 60-й, 90-й, 120-й дни жизни укладывалось в диапазон 4,00-5,03; 4,65-5,90; 0,70-1,00; 50% значений уровня апоптоз-положительных клеток в тимусе здоровых самцов на 60-й, 90-й, 120-й дни жизни укладывалось в диапазон 4,30-4,98; 4,70-5,20, 0,90-1,00, соответственно.

Таким образом, анализ всех данных свидетельствует, что диапазон физиологических колебаний индекса апоптоза, определенного методом ДНК-комет, значительно шире, чем диапазон колебаний уровня апоптоз-положительных клеток, определенного методом проточной цитофлюориметрии (исключение составлял показатель уровня апоптоз-положительных клеток, измеренный на 20-й день пренатального развития).

- **Результаты оценки изменения активности апоптоза на разных этапах онтогенетического развития**

Анализ результатов, полученных при выполнении ПНИ по Соглашению 14.604.21.0142, проводили с учетом данных, полученных в ФГБНУ «НИИ питания» ранее в аналогичных экспериментах по оценке активности апоптоза у самцов и самок крыс линии Вистар в возрасте 60, 90 и 120 дней. Величины индекса апоптоза в печени, тимусе, селезенке крыс линии Вистар обоего пола изменялись волнообразно: максимальные значения индекса апоптоза отмечены на 20-й день пренатального развития, с последующим постепенным снижением до минимальных величин на 15 день у самок и 30-й день у самцов (на ~40-41% от максимальных значений). Согласно полученным ранее данным на 90-й день жизни крыс наблюдалось сравнительно плавное увеличение активности апоптоза до умеренно высоких значений (на ~15-16% от максимальных значений).

Количество апоптоз-положительных клеток в тимусе крыс линии Вистар обоего пола изменялось аналогично индексу апоптоза, а именно: максимальные значения индекса апоптоза отмечены на 20-й день пренатального развития, с последующим постепенным снижением до минимальных величин на 30-й день у самок и самцов (на ~82-85% от максимальных значений). Согласно полученным ранее данным на 90-й день жизни крыс также наблюдалось сравнительно плавное увеличение активности апоптоза до умеренно высоких значений (на ~28-34% от максимальных значений).

Учитывая накопленный опыт исследований на моделях действия токсических факторов, оптимальным временем отбора образцов ткани как для определения индекса апоптоза методом ДНК-комет, так и для определения количества апоптоз-положительных клеток методом проточной цитометрии, можно считать периоды, когда фоновые величины этих показателей достигают минимальных и максимальных значений: любые колебания показателей на этих сроках будут наиболее заметны. Таким образом, 20-й день пренатального развития и 110-120-й дни жизни у крыс линии Вистар с высокой степенью уверенности можно считать оптимальными возрастными для отбора образцов тканей с целью исследований активности апоптоза.

Сравнение метода ДНК-комет и метода проточной цитофлуориметрии показало, что их чувствительность практически идентична, и позволяет регистрировать незначительное усиление апоптоза. Таким образом, для оценки уровня апоптоза может быть использован любой из этих методов, однако использование метода проточной цитофлуориметрии лимитировано количеством образцов (не более 20), которые могут быть обработаны за 1 день.

• **Разработка научно-методической модели (методики) оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза**

На основании полученных результатов была разработана научно-методическая модель (методика) оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза.

• **Разработка рекомендаций по использованию научно-методической модели оценки токсичности ГМО**

В соответствии с Техническим заданием на выполнение прикладных научных исследований были разработаны рекомендации по использованию научно-методической модели оценки токсичности ГМО в системе оценки безопасности ГМО, проводимой в рамках процедуры государственной регистрации новых линий ГМО для целей производства продовольственного сырья и пищевых продуктов.

3. Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД), полученные в рамках прикладного научного исследования

Нет.

4. Назначение и область применения результатов проекта

Разработанная научно-методическая модель (методика) оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза будет интегрирована в действующую в настоящее время в Российской Федерации систему оценки безопасности ГМО растительного происхождения.

5. Эффекты от внедрения результатов проекта

Использование научно-методической модели (методики) оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза расширит перечень биомаркеров, используемых в рамках исследований по оценке безопасности новых ГМО на этапе государственной регистрации, до выпуска этих ГМО на продовольственный рынок Российской Федерации. Это позволит повысить диагностическую ценность проводимых исследований и, следовательно, вероятность предотвращения возможных негативных последствий для здоровья человека, связанных с потреблением ГМО.

6. Формы и объемы коммерциализации результатов проекта

Разработанная научно-методическая модель будет включена в раздел VI методических указаний МУ 2.3.2.2306-07 «Медико-биологическая оценка безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения». **Возможными потребителями результатов** данного проекта могут стать во-первых – производители ГМО, осуществляющие генно-инженерную деятельность на территории Российской Федерации (на этапе оценки безопасности новых видов ГМО); во-вторых – организации (испытательные лаборатории), осуществляющие проведение экспертиз (исследований) в соответствии с утверждаемыми Министерством здравоохранения Российской Федерации, Министерством сельского хозяйства Российской Федерации и Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека методиками их производства для каждого из видов целевого использования модифицированных организмов (в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации №839 от 23.09.2013 г.).

7. Наличие соисполнителей

Соисполнители не привлекались.

Руководитель работ по проекту

Директор ФГБНУ «НИИ питания»

В.А. Тутельян

М.П.

Утверждаю:
Заместитель директора ФГБНУ
«НИИ питания» д-р мед. наук, проф.

_____ А.К. Батурин

«_____» _____ 2014 г.

**Ведомость
соответствия результатов работы требованиям технического задания (задания на выполнения работ)**

**государственного контракта от «05» ноября 2014 г. № 14.604.21.0142
по теме «Использование показателей активности апоптоза в качестве биомаркеров воздействия генно-инженерно-модифицированных организмов на здоровье млекопитающих»**

Шифр «2014-14-576-0160»

№ п/п	Требования ТЗ		Полученные результаты	Документ, подтверждающий результат	Соответствие требованиям ТЗ
	№ пункта	Установленные требования			
1	2	3	4	5	6
1	3	Требования к выполняемым работам			
2	3.1	Должен быть выполнен аналитический обзор современной научно-технической, нормативной, методической литературы, затрагивающей научно-техническую проблему, исследуемую в рамках НИР, в том числе обзор научных информационных источников: статьи в ведущих зарубежных и (или) российских научных журналах, монографии и (или) патенты) - не менее 15 научно-информационных источников за период 2009 – 2013 гг.	Аналитический обзор включает 119 источников, в том числе статей в ведущих зарубежных и российских научных журналах, монографий за период 2009 – 2013 гг. – 22, за 2014 – 5. На основании аналитического обзора информационных источников по теме проекта был сделан вывод, что, во-первых, во всем мире наблюдается прогрессивный рост использования ГМО в пищевых целях, выражающийся возрастанием количества модифицированных линий сельскохозяйственных культур (в настоящее время 27 сельскохозяйственных культур имеют ГМ аналоги), а так же ростом площадей, занятых ГМ	Заключительный отчет о ПНИ (разделы 1,2, стр. 9-35)	Соответствует

1	2	3	4	5	6
			<p>растениями; во-вторых, в Российской Федерации создана система оценки безопасности ГМО, которая непрерывно совершенствуется в соответствии с развитием научных подходов фундаментальной токсикологии; в-третьих, дальнейшее совершенствование системы оценки безопасности ГМО направлено на поиск новых биомаркеров, которые позволят повысить диагностическую ценность исследований, и одним из перспективных показателей, характеризующих компенсаторные свойства организма, является апоптоз.</p>		
3	3.2	<p>Должен быть определен перечень основных видов потенциальных угроз, возникающих при потреблении ГМО.</p>	<p>На основании анализа научной литературы был определен перечень основных видов потенциальных угроз, возникающих при потреблении ГМО-продукции, среди основных можно выделить угрозу проявления токсичности (вследствие усиления синтеза присущих данному виду токсинов или вследствие синтеза новых токсинов на основе рекомбинантной ДНК), а также угрозу проявления аллергенности (вследствие усиления синтеза присущих данному виду аллергенов или вследствие синтеза новых аллергенов на основе рекомбинантной ДНК). При этом мы принимаем за исходную гипотезу, что новый белок, синтез которого обусловлен новой генетической последовательностью, уже проверен и не имеет токсических или аллергенных свойств.</p>	<p>Заключительный отчет о ПНИ (раздел 2, стр. 29-35)</p>	<p>Соответствует</p>
4	3.3	<p>Должны быть исследованы, обоснованы и выбраны методы и средства, направления исследований и способы решения поставленных задач.</p>	<p>Исходя из перечня основных угроз, возникающих при потреблении ГМО, было выделено два направления исследований – исследование токсичности и исследование аллергенности, каждое из которых требует отдельной научной разработки. Настоящее исследование было направлено на поиск новых чувствительных биомаркеров, позволяющих выявить минимальные токсические воздействия на организм. Поскольку апоптоз является эволюционно-консервативным системным процессом, обеспечивающим поддержание гомеостаза на протяжении всего периода жизни организма, показатели активности апоптоза можно рассматривать</p>	<p>Заключительный отчет о ПНИ (раздел 2, стр. 29-35)</p>	<p>Соответствует</p>

1	2	3	4	5	6
			<p>как интегральные биомаркеры, отражающие уровень адаптации организма к окружающей среде и обладающие высокой неспецифической чувствительностью к воздействиям различной природы. Были все основания полагать, что определение активности апоптоза может быть эффективно использовано в исследованиях, направленных на изучение влияния экзогенных воздействий различной природы, в том числе новых источников пищи (ГМО).</p>		
5	3.4	<p>Должен быть разработан план научно-исследовательской работы с использованием экспериментальных моделей для исследований <i>in vivo</i>. Вид и линия подопытных животных, их пол и возраст, точки отбора материала для исследований, длительность и эксперимента должны быть выбраны с учетом имеющегося научного задела по этой проблеме и данных научной литературы.</p>	<p>План исследований разработан с учетом действующей в настоящее время в Российской Федерации системы оценки безопасности ГМО растительного происхождения (МУ 2.3.2.2306-07), которая включает проведение экспериментов <i>in vivo</i> на крысах линии Вистар. Общий дизайн комплексных исследований безопасности ГМО давно отработан, поэтому исследования в рамках заявленной темы были направлены на поиск оптимальных сроков отбора материала у крыс на разных этапах онтогенеза, начиная со стадии пренатального развития и заканчивая стадией половозрелого взрослого организма, чтобы в дальнейшем интегрировать новые показатели (биомаркеры апоптоза) в существующую схему оценки безопасности ГМО.</p> <p>В предварительных исследованиях, проведенных в ФГБНУ «НИИ питания», были получены данные по активности апоптоза у крыс возрастом 60, 90 и 120 дней, однако, для получения полной картины необходимы данные от более молодых животных.</p> <p>Для пополнения массива данных о колебаниях фонового уровня апоптоза на разных этапах онтогенеза определены следующие точки отбора материала: 20-й день пренатального развития, 2-й, 15-й и 30-й дни жизни. Следует отметить, что на стадии пренатального развития выбран единственный срок отбора материала (20-й день), поскольку, в соответствии с существующим дизайном исследований по оценке безопасности</p>	<p>Заключительный отчет о ПНИ (раздел 3, стр. 35-38)</p>	<p>Соответствует</p>

1	2	3	4	5	6
			<p>ГМО, предусмотрено вскрытие беременных самок и анализ формирования плодов на 20-й день пренатального развития; 2-й день жизни относится к периоду новорожденности, это период грудного вскармливания, 15-й день жизни – время перехода на смешанное вскармливание (вместе с грудным молоком матери крысята начинают есть и обычный рацион вивария), 30-й день жизни – время отъема крысят от материнских животных и переход на рацион вивария.</p>		
6	3.5	<p>В соответствии с литературными данными и результатами собственных исследований должны быть выбраны наиболее оптимальные органы-мишени для определения активности апоптоза. Должны быть выбраны количественные и качественные показатели здоровья подопытных животных, не связанные с апоптозом (динамика массы тела, поедаемость корма, состояние шерстного покрова, размеры внутренних органов и др.).</p>	<p>Оценка уровня апоптоза методом ДНК-комет была проведена в печени, почках и тимусе самцов и самок (печень и почки – органы, принимающие непосредственное участие в детоксикации и выведении токсичных веществ, тимус – один из традиционных органов при исследовании апоптоза, так как впервые апоптоз был показан именно в тимусе. Оценка уровня апоптоза методом проточной цитометрии должна была проведена в тимусе самцов и самок (обработка большего количества образцов, которые могут быть обработаны за 1 день) и подходы к пробоподготовке препаратов тимуса для оценки уровня апоптоза отработаны более детально.</p> <p>Для подтверждения отсутствия органических и функциональных расстройств и заболеваний (подтверждения здоровья) экспериментальных животных, наряду с оценкой уровня апоптоза у крыс были проведены исследования морфологической картины периферической крови у крыс на 15-й и 30-й дни жизни, постмортальная некропсия и макроскопические морфологические исследования внутренних органов. В течение эксперимента были выполнены наблюдения за поедаемостью корма, массой тела и общим состоянием животных. Также были изучены показатели беременности и проведена оценка пренатального развития потомства.</p>	<p>Заключительный отчет о ПНИ (раздел 3, стр. 35-38)</p>	<p>Соответствует</p>

1	2	3	4	5	6
7	3.6	<p>Должен быть предложен комплекс методов (метод ДНК-комет и метод проточной цитометрии) для определения активности апоптоза в органах подопытных животных, направленный на выявление возможных негативных последствий, связанных с потреблением ГМО.</p>	<p>Подбор методов анализа для определения активности апоптоза в органах подопытных животных проведен с учетом соответствия цели исследования и выбранных методов; современной актуальности методов; чувствительности методов; надежности и возможности стандартизации методов; однозначности научной интерпретации результатов, полученных при использовании данных методов, а также сложности их постановки. Принимая во внимание все вышеперечисленные требования, а также имеющуюся в ФГБНУ «НИИ питания» приборную базу и существующий задел исследований по данному направлению были выбраны метод гелеэлектрофореза изолированных клеток (метод «ДНК-комет») и метод проточной цитометрии.</p>	<p>Заключительный отчет о ПНИ (раздел 4, стр. 38-46)</p>	<p>Соответствует</p>
8	3.7	<p>Должен быть выбран метод статистического анализа полученных результатов.</p>	<p>Выбор метода статистического анализа полученных результатов проведен с учетом соответствия выбранного метода и плана исследований, а также с учетом современной актуальности и общепризнанности метода. Для обработки результатов исследования было решено использовать пакет программ прикладного статистического анализа StatSoft STATISTICA 8.0. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) решено принимать равным 0,05. Для определения характера распределения количественных признаков был использован χ^2-критерий, для проверки гипотезы о равенстве дисперсий – критерий Левена. Были вычислены среднее значение (M), стандартное отклонение (SD) и стандартная ошибка среднего (m), данные представлены как $M \pm m$. Для определения границы физиологической нормы активности апоптоза у животных разного пола и возраста данные были обработаны в программе SPSS-Statistics 18.0 и использованы ящичные диаграммы.</p>	<p>Заключительный отчет о ПНИ (раздел 5, стр. 46-48)</p>	<p>Соответствует</p>

1	2	3	4	5	6
9	3.8	<p>Должны быть определены границы физиологической нормы активности апоптоза у животных разного пола и возраста, а также оценены изменения активности апоптоза на разных этапах онтогенетического развития.</p>	<p>Для определения границы физиологической нормы активности апоптоза все индивидуальные данные, полученные в эксперименте <i>in vivo</i>, были обработаны с помощью ящичных диаграмм. Показано, что 50% значений индекса апоптоза в печени здоровых самок крыс линии Вистар на 20-й день пренатального развития, 2-й, 15-й и 30-й дни жизни укладывалось в диапазон 1,03-1,40; 0,85-1,38; 0,75-0,80; 0,65-1,08; в почках – в диапазон 1,09-1,30; 1,00-1,35; 0,63-0,93; 0,75-0,85; в тимусе – в диапазон 1,29-1,56; 0,83-1,30; 0,70-0,80; 0,65-0,94; соответственно; 50% значений индекса апоптоза в печени здоровых самцов крыс линии Вистар на 20-й день пренатального развития, 2-й, 15-й и 30-й, дни жизни укладывалось в диапазон 1,10-1,48; 1,13-1,38; 0,75-1,00; 0,66-0,93; в почках – в диапазон 1,26-1,50; 0,93-1,30; 0,60-1,00; 0,70-0,98; в тимусе 1,19-1,49; 0,75-1,13; 0,65-0,88; 0,69-0,93, соответственно. Ранее в аналогичных экспериментах, проведенных в ФГБНУ «НИИ питания», с целью оценки активности апоптоза у самцов и самок крыс линии Вистар в возрасте 60, 90 и 120 дней было показано, что 50% значений индекса апоптоза в печени здоровых самок крыс линии Вистар на 60-й, 90-й, 120-й дни жизни укладывалось в диапазон 0,68-1,08; 0,88-1,20; 0,66-1,03, в почках – в диапазон 0,70-0,95; 1,18-1,45; 0,80-1,09, в тимусе – в диапазон 0,68-0,98; 1,13-1,25; 0,63-1,00, соответственно; 50% значений индекса апоптоза в печени здоровых самцов крыс линии Вистар на 60-й, 90-й, 120-й дни жизни укладывалось в диапазон 0,63-0,93; 0,85-1,23; 0,70-0,95, в почках – в диапазон 0,55-0,93; 0,85-1,23; 0,70-1,10, в тимусе 0,75-1,08; 1,10-1,25; 0,71-0,94, соответственно.</p> <p>50% Значений уровня апоптоз-положительных клеток в тимусе здоровых самок крыс линии Вистар на 20-й день пренатального развития, 2-й и 30-й дни жизни укладывалось в диапазон 6,45-9,28; 4,30-5,28; 0,98-1,33;</p>	<p>Заключительный отчет о ПНИ (раздел 6.2, стр. 55-74)</p>	<p>Соответствует</p>

1	2	3	4	5	6
			<p>50% значений уровня апоптоз-положительных клеток в тимусе здоровых самцов на 20-й день пренатального развития, 2-й, 15-й и 30-й дни жизни укладывалось в диапазон 5,60-9,50; 4,60-5,20; 3,48-4,15; 1,20-1,55, соответственно. Согласно полученным ранее данным 50% значений уровня апоптоз-положительных клеток в тимусе здоровых самок крыс линии Вистар на 60-й, 90-й, 120-й дни жизни укладывалось в диапазон 4,00-5,03; 4,65-5,90; 0,70-1,00; 50% значений уровня апоптоз-положительных клеток в тимусе здоровых самцов на 60-й, 90-й, 120-й дни жизни укладывалось в диапазон 4,30-4,98; 4,70-5,20, 0,90-1,00, соответственно.</p> <p>Таким образом, анализ всех данных свидетельствует, что диапазон физиологических колебаний индекса апоптоза, определенного методом ДНК-комет, значительно шире, чем диапазон колебаний уровня апоптоз-положительных клеток, определенного методом проточной цитофлуориметрии (исключение составлял показатель уровня апоптоз-положительных клеток, измеренный на 20-й день пренатального развития).</p> <p>Оценку изменения активности апоптоза на разных этапах онтогенетического развития проводили с учетом данных, полученных в ФГБНУ «НИИ питания» ранее в аналогичных экспериментах у самцов и самок крыс линии Вистар в возрасте 60, 90 и 120 дней. Показано, что величины индекса апоптоза в печени, тимусе, селезенке крыс обоего пола изменялись волнообразно: максимальные значения индекса апоптоза отмечены на 20-й день пренатального развития, с последующим постепенным снижением до минимальных величин на 15 день у самок и 30-й день у самцов (на ~40-41% от максимальных значений). Согласно полученным ранее данным на 90-й день жизни крыс наблюдалось сравнительно плавное увеличение активности апоптоза до умеренно высоких значений (на ~15-16% от максимальных значений).</p>		

1	2	3	4	5	6
			<p>Количество апоптоз-положительных клеток в тимусе крыс линии Вистар обоего пола изменялось аналогично индексу апоптоза.</p> <p>Учитывая накопленный опыт исследований на моделях действия токсических факторов, оптимальным временем отбора образцов ткани как для определения индекса апоптоза методом ДНК-комет, так и для определения количества апоптоз-положительных клеток методом проточной цитометрии, можно считать периоды, когда фоновые величины этих показателей достигают минимальных и максимальных значений: любые колебания показателей на этих сроках будут наиболее заметны. Таким образом, 20-й день пренатального развития и 110-120-й дни жизни у крыс линии Вистар с высокой степенью уверенности можно считать оптимальными возрастными для отбора образцов тканей с целью исследований активности апоптоза.</p>		
10	3.9	<p>Должна быть разработана научно-методическая модель (методика) оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза.</p>	<p>В соответствии с ТЗ на выполнение данного ПНИ была разработана научно-методическая модель (методика) оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза. Данная модель устанавливает требования к проведению оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза и учитывает направления и особенности проведения исследований безопасности в ходе государственной регистрации ГМО, предназначенных для пищевых целей, а также международный опыт регулирования производства и оборота пищевой продукции, полученной из/или с применением ГМО.</p>	<p>Научно-методическая модель (методика)</p>	<p>Соответствует</p>
11	3.10	<p>Должны быть разработаны рекомендации по использованию научно-методической модели оценки токсичности ГМО в системе оценки безопасности ГМО, проводимой в рамках процедуры государственной регистрации новых линий ГМО для целей производства продовольственного сырья и пищевых продуктов.</p>	<p>В соответствии с ТЗ были разработаны рекомендации по использованию научно-методической модели оценки токсичности ГМО в системе оценки безопасности ГМО, проводимой в рамках процедуры государственной регистрации новых линий ГМО для целей производства продовольственного сырья и пищевых продуктов. Настоящие рекомендации распространяются</p>	<p>Рекомендации по использованию разработанной научно-методической модели</p>	<p>Соответствует</p>

1	2	3	4	5	6
			<p>на проведение оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза. При разработке рекомендаций руководствовались следующими нормативными ссылками: ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»; Федеральными законами «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» (№ 86-ФЗ от 05.07.1996 г.); «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (№ 52-ФЗ от 30.03.1999 г.); «О качестве и безопасности пищевых продуктов» (№ 29-ФЗ от 02.01.2000 г.); Постановлениями Правительства Российской Федерации N 839 от 23.09.2013 г. «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов, предназначенных для выпуска в окружающую среду, а также продукции, полученной с применением таких организмов или содержащей такие организмы»; N 548 от 16.06.2014 г. «О внесении изменения в постановление Правительства Российской Федерации от 23 сентября 2013 г. № 839». Рекомендации предназначены для специалистов, органов и организаций, осуществляющих оценку безопасности ГМО в соответствии с видом их целевого использования, а также других учреждений, аккредитованных на проведение работ в этой области, деятельность которых связана с оценкой безопасности ГМО для здоровья человека и животных. Требования, изложенные в рекомендациях, применяются на этапе государственной регистрации ГМО, впервые поступающих на продовольственный рынок Российской Федерации.</p>		
12	4	Технические требования			
13	4.1	<p>Требования по назначению научно-технических результатов ПНИ. Разрабатываемая в ходе выполнения ПНИ научно-методическая модель оценки токсичности ГМО и рекомендации по ее использованию должны предназначаться для выполнения оценки безопасности</p>	<p>В ходе выполнения ПНИ были разработаны научно-методическая модель оценки токсичности ГМО и рекомендации по ее использованию, которые предназначены для выполнения оценки безопасности ГМО, проводимой в рамках процедуры государственной регистрации новых линий ГМО.</p>	<p>Научно-методическая модель (методика)</p>	<p>Соответствует</p>

1	2	3	4	5	6
		ГМО, проводимой в рамках процедуры государственной регистрации новых линий ГМО.			
14	4.2	Требования к показателям назначения, техническим характеристикам научно-технических результатов ПНИ			
15	4.2.1	Разрабатываемая научно-методическая модель оценки токсичности ГМО должна учитывать международный опыт регулирования производства и оборота новых линий ГМО.	Разработанная научно-методическая модель оценки токсичности ГМО учитывает международный опыт регулирования производства и оборота новых линий ГМО.	Научно-методическая модель (методика)	Соответствует
17	4.2.2	Разрабатываемая научно-методическая модель оценки токсичности ГМО должна учитывать направления и особенности производства в Российской Федерации продукции, содержащей ГМО	Разработанная научно-методическая модель оценки токсичности ГМО учитывает направления и особенности производства в Российской Федерации продукции, содержащей ГМО	Научно-методическая модель (методика)	Соответствует
18	4.2.3	Разрабатываемая научно-методическая модель (методика) оценки токсичности ГМО и рекомендации по ее использованию должны учитывать особенности функционирования лабораторий и испытательных центров Российской Федерации (в частности, техническую возможность приобретения реактивов и приборов, рекомендованных для работы).	Разработанная научно-методическая модель (методика) оценки токсичности ГМО и рекомендации по ее использованию учитывают особенности функционирования лабораторий и испытательных центров Российской Федерации (в частности, техническую возможность приобретения реактивов и приборов, рекомендованных для работы).	Научно-методическая модель (методика)	Соответствует
19	4.2.4	Разрабатываемые рекомендации должны включать конкретные протоколы экспериментов с указанием: а) длительности разных этапов эксперимента; б) критериев отбора животных, используемых для эксперимента; в) условий содержания животных, включая количество и состав кормов (с уточнением массовой доли каждого компонента в кормовой смеси); г) методов добавления ГМО в рацион опытной группы (количество, способ добавления в пищу); д) особенностей изменения рациона контрольной группы (рекомендуется введение традиционного аналога изучаемого ГМО в рацион контрольной группы в эквивалентном количестве); е) составов и порядка приготовления и хранения всех используемых в молекулярно-биологических методиках растворов (с указанием степени чистоты реактивов);	Разработанные рекомендации включают конкретные протоколы экспериментов с указанием: а) длительности разных этапов эксперимента; б) критериев отбора животных, используемых для эксперимента; в) условий содержания животных, включая количество и состав кормов (с уточнением массовой доли каждого компонента в кормовой смеси); г) методов добавления ГМО в рацион опытной группы (количество, способ добавления в пищу); д) особенностей изменения рациона контрольной группы (рекомендуется введение традиционного аналога изучаемого ГМО в рацион контрольной группы в эквивалентном количестве); е) составов и порядка приготовления и хранения всех используемых в молекулярно-биологических методиках растворов (с указанием степени чистоты реактивов);	Рекомендации по использованию разработанной научно-методической модели	Соответствует

1	2	3	4	5	6
		<p>ж) материалов, из которых должно быть изготовлено оборудование;</p> <p>з) количественных показателей настройки всех применяемых приборов (объем, температура и время инкубации проб, ускорение центрифугирования, параметры электрофореза, напряжение и сила тока, увеличение при микроскопии образцов и др.);</p> <p>и) используемых тест-систем;</p> <p>к) рекомендованных производителей для всех используемых в работе приборов и реактивов.</p>	<p>ж) материалов, из которых должно быть изготовлено оборудование;</p> <p>з) количественных показателей настройки всех применяемых приборов (объем, температура и время инкубации проб, ускорение центрифугирования, параметры электрофореза, напряжение и сила тока, увеличение при микроскопии образцов и др.);</p> <p>и) используемых тест-систем;</p> <p>к) рекомендованных производителей для всех используемых в работе приборов и реактивов</p>		
20	5	<p>Требования к патентным исследованиям и регистрации результатов интеллектуальной деятельности.</p> <p>Не устанавливаются.</p>	Не установлены	Не установлены	Соответствует
21	6	Требования к разрабатываемой документации			
22	6.1	<p>В ходе ПНИ должна быть разработана следующая научно-техническая и техническая документация:</p> <p>6.1.1 Отчет о ПНИ в соответствии с ГОСТ 7.32-2001, отражающий результаты работ.</p> <p>6.1.2 Научно-методическая модель (методика) оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза.</p> <p>6.1.3 Рекомендации по использованию разработанной научно-методической модели оценки токсичности ГМО в системе оценки безопасности ГМО, проводимой в рамках процедуры государственной регистрации новых линий ГМО для целей производства продовольственного сырья и пищевых продуктов.</p>	<p>В ходе ПНИ была разработана следующая научно-техническая и техническая документация:</p> <p>6.1.1 Отчет о ПНИ в соответствии с ГОСТ 7.32-2001, отражающий результаты работ.</p> <p>6.1.2 Научно-методическая модель (методика) оценки токсичности ГМО с использованием биомаркеров активности апоптоза.</p> <p>6.1.3 Рекомендации по использованию разработанной научно-методической модели оценки токсичности ГМО в системе оценки безопасности ГМО, проводимой в рамках процедуры государственной регистрации новых линий ГМО для целей производства продовольственного сырья и пищевых продуктов.</p>	Заключительный отчет о ПНИ, научно-методическая модель (методика) и Рекомендации по использованию разработанной научно-методической модели	Соответствует
23	6.2	Оформление технической документации должно соответствовать требованиям ГОСТ 2.125-2008.	Оформление технической документации соответствует требованиям ГОСТ 2.125-2008.	ОД за 1 этап	Соответствует
24	6.3	Состав отчетной документации, подлежащей оформлению и сдаче Получателем субсидий Минобрнауки России на этапах выполнения работ, определяется нормативными актами Минобрнауки России.	Состав отчетной документации, подлежащей оформлению и сдаче Получателем субсидий Минобрнауки России на этапах выполнения работ, определен нормативными актами Минобрнауки России.	ОД за 1 этап	Соответствует

1	2	3	4	5	6
25	6.4	Если при выполнении той или иной работы, заданной требованиями настоящего ТЗ и предусмотренной Планом-графиком, не предусмотрена разработка законченного научно-технического документа, указанного в п.6.1 ТЗ, результат работы должен быть отражен в Отчете о ПНИ в виде раздела (подраздела) Отчета. Название раздела (подраздела) Отчета о ПНИ должно соответствовать наименованию работы в Плане-графике исполнения обязательств.	Название разделов Отчета о ПНИ соответствует наименованию работ в Плане-графике исполнения обязательств.	Заключительный отчет о ПНИ, п.6.4 ТЗ	Соответствует
26	6.5	Техническая и отчетная документация должна быть представлена Минобрнауки России или уполномоченной им организации на бумажном носителе в одном экземпляре и в электронном виде на оптическом носителе в одном экземпляре.	Техническая и отчетная документация представлена Минобрнауки России и уполномоченной им организации на бумажном носителе в одном экземпляре и в электронном виде.	Уведомления о готовности работ 1 этапа	Соответствует
27	7	Этапы работ и сроки их выполнения. Этапы выполнения ПНИ, содержание работ, перечень документов, разрабатываемых на этапах, сроки исполнения и объемы финансирования по этапам приведены в «Плане-графике исполнения обязательств при выполнении прикладных научных исследований (проекта)» (приложение 2 к Соглашению о предоставлении субсидии).	Этапы выполнения ПНИ, содержание работ, перечень документов, разрабатываемых на этапах, сроки исполнения и объемы финансирования по этапам приведены в «Плане-графике исполнения обязательств при выполнении прикладных научных исследований (проекта)» (приложение 2 к Соглашению о предоставлении субсидии).	Уведомления о готовности работ 1 этапа	Соответствует

Руководитель работ

Директор ФГБНУ «НИИ питания» _____ В.А. Тутельян

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт питания"
«__» _____ 2014 г.