

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»



А.А. Федянин

2020.

**Отзыв ведущей организации
о диссертации Орловой Ольги Игоревны**

"Хроматомасс-спектрометрическое определение аддуктов алкилирующих агентов с ДНК и ацетилцистеином в биопробах", представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности **02.00.02 – Аналитическая химия**

Работа **Орловой О.И.** посвящена разработке научно-методического обеспечения для хроматомасс-спектрометрического определения аддуктов алкилирующих агентов (на примере сернистого и азотистого ипритов) с ДНК и ацетилцистеином в биопробах.

Проблема оценки характера и глубины повреждающего воздействия алкилирующих агентов, к числу которых относятся не только отравляющие вещества и промышленные загрязнители, но и лекарственные препараты, является чрезвычайно актуальной для современной биологической науки и клинической практики. В последние годы, благодаря совершенствованию инструментальной техники и методологии аналитических исследований появилась возможность разработки методик, позволяющих на молекулярном уровне проникать в механизм таких важных процессов как повреждение и репарация ДНК. Исследование указанных процессов может быть положено в основу квалифицированного подхода к разработке схем терапии, основанных на применении антидотов и сквенджеров.

Большое социальное и политическое значение имеют расследования фактов применения высокотоксичных отравляющих веществ, в том числе и запрещенных международными конвенциями. В тех случаях, когда доступ к химическому инциденту затруднен или обстоятельства отравления неизвестны, объектом судебно-химической экспертизы является ис-

ключительно биологический материал. Поскольку ДНК содержится во всех тканях и биожидкостях организма, аддукты токсичных веществ с ДНК, в отличие от аддуктов с ферментами, можно рассматривать в качестве уникальных аналитов, присутствие которых не исключается в любом биологическом материале любой степени сохранности. В то же время, от принципиальной возможности определения ковалентных аддуктов токсичных веществ с ДНК до воплощения этих подходов в судебно-химическую практику аналитикам предстоит пройти трудный путь, разработать новые аналитические стратегии. Вышесказанное обуславливает **актуальность и своевременность** научных задач, решаемых в диссертации О.И.Орловой.

Анализируя работу с позиций формулы специальности «Аналитическая химия», следует отметить, что диссертация О.И.Орловой посвящена молекулярному анализу в его качественном и количественном аспектах. Объектами анализа являются соединения биологического происхождения. В качестве выделяемых и описываемых аналитических сигналов выступают интенсивности сигналов ионов в масс-спектрах аналитов. По направлениям, объектам и способам исследований **работа в полной мере отвечает паспорту специальности 02.00.02 «Аналитическая химия»**

Выполненный автором диссертации обзор литературы исчерпывающим образом отражает современное состояние аналитической химии определения аддуктов алкилирующих агентов с ДНК. Систематизированы и проанализированы имеющиеся данные по способам образования и методам анализа аддуктов, особое внимание уделено практике ВЭЖХ-МС/МС анализа, а также обсуждаются возможности и ограничения существующих способов проведения количественного анализа и идентификации компонентов в биопробах.

Научная новизна диссертации заключается в разработке методики совместного определения наиболее значимого аддукта сернистого иприта с ДНК (N7-НЕТЕГ) и белками (СБАЦЭ) в моче, позволяющая на молекулярном уровне установить биомаркеры воздействия сернистого иприта на ДНК и оценить повреждения организма. Подобраны условия анализа проб мочи, позволившие в эксперименте *in vivo* изучить кинетику экскреции N7-НЕТЕГ и СБАЦЭ: определены масс-спектрометрические характеристики аналитов, установлена стабильность выявленного биомаркера.

Показана возможность определения кинетических профилей аддуктов ДНК с лекарственными препаратами алкилирующего действия на примере ЦФА. Определены основные продукты взаимодействия активного метаболита ЦФА с ДНК, получены их масс-спектральные характеристики. Предложена аналитическая схема изучения кинетики выведения аддуктов ЦФА с ДНК в условиях терапии АЦЦ и в отсутствие терапии.

Диссертационная работа **Орловой О.И.** содержит все обязательные составляющие для такого уровня исследований и включает введение, обзор литературы, характеристику объектов и методов исследования, обсуждение полученных результатов, выводы и список цитируемой литературы, содержащий 149 источников. Важно отметить современный уровень решения аналитических задач. Результаты исследований обсуждены в сравнении с данными литературных источников, опубликованных в последние годы. По замыслу и его воплощению работу можно отнести к разряду пионерских.

В ходе выполнения диссертационной работы **Орловой О.И.** продемонстрировала профессионализм в таких областях, как высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия, пробоподготовка сложных объектов биологического происхождения, что свидетельствует о высокой квалификации и широком научном кругозоре.

Достоверность полученных в диссертации результатов подтверждается их непротиворечивостью с данными литературы, применением в работе высокопрецизионного сертифицированного оборудования.

Работа прошла хорошую апробацию. Опубликовано **шесть** статей в журналах, рекомендованных ВАК, а также **восемь** тезисов докладов. Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на представительных конференциях различного уровня.

Наряду с фундаментальной составляющей, результаты диссертации **Орловой О.И.** представляют и **практическую ценность** и могут быть использованы в работе сотрудниками Московского, Санкт-Петербургского и других университетов, экспертных организаций различных ведомств, ВУЗов и научно-исследовательских организаций химического и медицинского профиля, фармацевтических организаций, а также организаций здравоохранения.

Диссертационная работа Орловой О.И. не лишена отдельных недостатков:

- 1) Требуется более четкая формулировка критериев, согласно которым из перечисленных соискателем аддуктов ДНК и СИ был выбран именно N7-НЕТЕГ; может ли данный принцип быть распространен на аддукты ДНК с другими цитостатиками?
- 2) Может ли подобранный внутренний стандарт рассматриваться в качестве универсального при исследовании аддуктов с ДНК любых цитостатиков? Или соискатель готов предложить рекомендации для подбора внутреннего стандарта с учетом особенностей исследуемого цитостатика?
- 3) Не является ли более активной экскреция фрагментированных аддуктов с ДНК позитивным показателем, свидетельствующим о преобладании репарационных процессов над деструктивными? Соискатель трактует повышение концентрации депурированных ад-

дуктов циклофосфамида с ДНК в моче исключительно как негативный (деструктивный) признак.

Сделанные замечания не снижают общей, безусловно, положительной оценки диссертационного исследования **Орловой О.И.** и носят характер научной дискуссии.

Диссертационная работа соответствует требованиям пункта 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335), как научная квалификационная работа, в которой содержится решение задач, имеющих существенное значение для развития теоретических представлений и расширения сферы практического применения высокотехнологичных хромато-спектральных методов, развития методологии использования этих методов в биоаналитических исследованиях, а также для дальнейшего расширения методологии определения биомолекулярных аддуктов ксенобиотиков в сложных биологических матрицах. Автор диссертации, **Орлова Ольга Игоревна**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации.

Отзыв подготовлен и.о. заведующего лабораторией масс-спектрометрии кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова доктором химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия **И. А. Родиным**.



И. А. Родин

Отзыв заслушан и одобрен на заседании кафедры аналитической химии химического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова протокол № 2 от 2 марта 2020 года.

Заместитель декана химического факультета

доцент, доктор химических

Наук



М. Э. Зверева

Ученый секретарь кафедры аналитической химии

доктор химических наук



В.В. Апяри