

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертации Уколова Антона Игоревича «Хроматомасс-спектрометрическая методология определения биомаркеров вредных химических веществ при расследовании обстоятельств острых и хронических отравлений», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия

Диссертационная работа Уколова А.И. посвящена совершенствованию научно-методического аппарата химико-токсикологических и судебно-химических лабораторий при установлении ими причин острых и хронических отравлений. В данный момент в мировой и отечественной токсикологической науке наметилось явное отставание от медицины в области использования метаболического профилирования биологических образцов, что затрудняет прогресс в области поиска новых биомаркеров промышленных токсикантов. Предпринятые автором усилия по разработке и, главное, внедрению в практику подходов к повышению надежности идентификации органических соединений и метаболического профилирования биологических образцов на основе хромато-масс-спектрометрических методов анализа, делают диссертационную работу несомненно **актуальной**.

Диссертация Уколова А.И. имеет **традиционную структуру** и включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть и обсуждение результатов, вывод и список цитируемой литературы. Работа содержит большое количество иллюстративного материала, что облегчает понимание и анализ полученных результатов. В автореферате **полностью отражено** содержание диссертационной работы.

Основные результаты диссертации **полностью изложены** в научной печати (21 статья в журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных работ) и в виде глав монографий и методических рекомендаций, а также апробированы в виде сообщений на всероссийских и международных конференциях.

Подробный **обзор литературы** в полной мере отражает современное состояние проблем определения ксенобиотиков и биогенных соединений в биологических средах методами газовой и высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии, а также проблем подготовки образцов и практического использования баз данных хромато-спектральных характеристик. Важными выводами из литературного обзора является то, что токсикологическая метаболомика является областью, получающей недостаточное внимание исследователей, а также то, что промышленные токсиканты, в большинстве своем остаются вне поля зрения классического химико-токсикологического анализа.

Среди наиболее значимых результатов работы, отвечающих критерию **научной новизны**, можно выделить следующие:

- Разработанный подход к определению гидроксилamina, нового вида ракетного топлива, в биологических жидкостях. Гидроксилamin – это крупнотоннажный продукт, широко используемый в промышленности, однако методики его определения в биологических средах отсутствовали.

- Всего в работе Уколова А.И. рассмотрено более четырех десятков вредных и токсичных органических соединений. Автором разработаны методики количественного определения, идентифицированы метаболиты, выявлены ранее неизвестные особенности механизмов действия алифатических углеводородов, гидроксилamina, галогенорганического хладона, нового средства пожаротушения, фосфорорганических соединений, в том числе боевых ОВ, и прочих промышленных и других опасных химических загрязнителей. Комплексное исследование механизмов действия алифатических углеводородов, позволило выявить новые биомаркеры их воздействия на человека и пересмотреть действующие нормы их концентраций в атмосферном воздухе.

- Автором обнаружен новый способ определения положения алкильного заместителя в фенолах методом ГХ-МС/МС, а для метаболического профилирования образцов плазмы крови, мочи, предложен новый подход к использованию баз данных масс-спектров электронной ионизации и газохроматографических индексов

удерживания, заключающийся в создании целевых баз данных эндогенных маркеров негативных химических факторов.

Также несомненной является **практическая значимость** работы:

- Использование результатов работы позволяет повысить эффективность недорогих ГХ-МС систем с моноквадрупольных систем для метаболического профилирования биологических образцов.

- Материалы диссертационной работы Уколова А.И, в частности фактические данные о параметрах токсикокинетики 6 фосфорорганических пестицидов, 16 летучих промышленных загрязнителей и механизмах действия гидроксилamina, алифатических углеводородов C1-C5 и C6-C10 и хладона RL316 (1,4-дихлоргексафторбутена-2) внесены в Федеральный регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Роспотребнадзора и использовались при подготовке паспортов безопасности данных веществ.

- Результаты работы оформлены в виде соответствующих методических рекомендаций ФМБА России, а также использованы при разработке нескольких гигиенических нормативов.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием современного химико-аналитического оборудования, правильным дизайном экспериментов, применением надежных, не вызывающих сомнения методов статистической обработки результатов экспериментов.

Можно заключить, что все поставленные **цели и задачи** были автором **решены**. При ознакомлении с текстом автореферата и диссертации Уколова А.И. возникло несколько замечаний и вопросов к автору:

1. В диссертации обсуждается исследование метаболомных профилей и маркеров токсического воздействия. Несмотря на то, что метаболиты ксенобиотиков являются частью метаболомного профиля, традиционным предметом метаболомики является наблюдение изменений профилей эндогенных соединений под влиянием различных факторов (заболевания, отравления). Как в диссертации разнесены понятия экзогенных и эндогенных соединений, как они между собой коррелируют?

2. Автор предлагает использовать базы данных соединений, составляющих метаболические профили. Из чего состоят такие базы данных, каким способом и по какому признаку (критерию) выбирались соединения, какие группы соединений являются целевыми?
3. Каким образом изменения метаболических профилей были опознаны и трактованы как «биомаркеры»? Наблюдали ли вы прослеживаемость изменений в гомологических рядах эндогенных соединений при нарушениях метаболических профилей.
4. Оценивалась ли устойчивость изменений метаболических профилей во времени, и если да, то как долго сохранялись такие изменения?
5. Что требуется для того, чтобы признать опознаваемый биомаркер статистически значимым? Насколько выявленные биомаркеры опробованы в натуральных условиях, например при исследовании причин острых отравлений?
6. Общий принцип формирования библиотек масс-спектров предполагает регистрацию спектров с использованием методов, разных по идентификационным возможностям: ГХ-МС, МСВР и пр. Проводили ли вы подтверждение структуры веществ перечисленными методами?
7. В диссертации показано, что процент совпадения библиотечного и зарегистрированного масс-спектра зависел от объема библиотеки, что имелось в виду?
8. При проведении деконволюции в ПО AMDIS были использованы стандартные подходы или собственные? И в чем заключается предложенный Вами способ оптимизации баз данных. Объясните термин условно-ложноположительные результаты AMDIS идентификации. А что тогда истинные ложноположительные и ложноотрицательные результаты?
9. «Статистическая мощность» - неудачный термин, может быть лучше использовать более распространенный термин «статистическая значимость»?
10. Каковы критерии унификации в создании единой платформы идентификации всех биомаркеров? На какое вещество из перечня внутренних стандартов нормализуют обнаруженный биомаркер?

11. Установлены ли пороговые уровни для свободных жирных кислот и их эфиров как маркеров токсического воздействия? Эти вещества являются банальными загрязнителями, а также могут поступать с пищей и образовываться в результате микробной активности при ненадлежащем отборе и хранении проб.
12. Как учитываются изменения метаболических профилей при ненадлежащем хранении проб?
13. Использовали ли парофазный анализ, оценивали ли корреляцию результатов, полученных методом HS-SPME с парофазным?
14. В тексте автореферата и диссертации есть неточности в использовании и написании терминов:
 - «химико-токсикологический» следует писать с дефисом;
 - «токсиколого-аналитический» не является устоявшимся и понятным термином, вместо него следует использовать более употребимый;
 - вместо прилагательного «высоколетучие» (с. 7 и 40 автореферата, с. 11, 110, 218 - диссертации) следует использовать «летучие», даже по отношению к газообразным алканам;
 - термин «хроматомасс-спектрометрия» (с. 13, 14, 25, 57, 92, 94, 95, 96, 133, 135, 172, 216 диссертации) следует писать с двумя дефисами. И, в любом случае, придерживаться единообразного написания терминов;
 - вместо термина «ионизация электронами» лучше использовать «электронная ионизация».

В целом, диссертационная работа Уколова А.И. оставила исключительно положительное впечатление. Положения, выносимые на защиту, обоснованы, и подтверждены полученными экспериментальными данными.

Результаты диссертационной работы могут быть использованы в медико-биологических НИИ Министерства здравоохранения и ФМБА России, центрах профпатологии, центрах Роспотребнадзора и различных химико-токсикологических лабораториях.

Диссертационная работа Уколова А.И. «Хроматомасс-спектрометрическая методология определения биомаркеров вредных химических веществ при расследовании обстоятельств острых и хронических отравлений» актуальна и имеет большое практическое значение, выполнена на современном уровне и является законченной научно-исследовательской работой. Выполненная диссертация отвечает паспорту специальности 02.00.02 – Аналитическая химия и соответствует критериям, предъявляемым к докторским диссертациям, установленным пп. 9 и 10 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор, Уколов Антон Игоревич, заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук по специальности
02.00.02 – Аналитическая химия,
главный научный сотрудник отдела
специальных и инновационных исследований
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Российский центр судебно-медицинской экспертизы»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России)
125284, г. Москва, ул. Поликарпова, д. 12/13, mail@rc-sme.ru
Эл. почта: serg-savchuk@yandex.ru Тел: +7(903)740-93-90

Савчук Сергей Александрович

Я, Сергей Александрович Савчук, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку



Подпись С.А. Савчука заверяю

Наталья Владимировна Коррвова *Игорь Владимирович Курманов*