

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

В химико-токсикологических лабораториях при расследованиях обстоятельств острых и хронических отравлений проводится обнаружение и идентификация ксенобиотиков в биологических образцах. Обнаружение высоких концентраций ксенобиотиков в биосредах, как правило, не представляет методических трудностей, в то время, как их низкие концентрации сложно определять при использовании классических подходов к физико-химическому анализу.

Представленная работа связана с изучением и разработкой новых подходов к повышению надежности идентификации органических соединений и метаболического профилирования биологических образцов на основе хроматомасс-спектрометрических методов анализа, позволяющих определять пути биотрансформации ксенобиотиков и биоаналитического мониторинга при расследованиях обстоятельств острых и хронических отравлений.

В последние годы наблюдается устойчивый интерес к решению задачи разработки новых высокочувствительных методик оценки экспозиции человека к потенциально опасным химическим веществам, присутствующим в окружающей среде, основанных на измерениях концентраций не только самих ксенобиотиков, но и их метаболитов в крови, моче, слюне или тканях. Ключевым этапом разработки и внедрения в практику химико-

токсикологических лабораторий таких методик является выявление и внедрение в практику химико-токсикологических лабораторий процедур определения новых биомаркеров, причем наиболее эффективная стратегия должна предполагать поиск как "биомаркеров экспозиции", так и эндогенных соединений, составляющих метаболические профили. Главной из объективных предпосылок к дополнению токсиколого-аналитического скрининга методами выявления биомаркеров эффекта является потребность в объективной информации о тяжести и последствиях воздействия химических факторов на организм.

Решению сформулированных выше вопросов, требующих глубокого и систематического изучения, и посвящена диссертационная работа Уколова А.И. Таким образом, **актуальность** данной диссертационной работы не вызывает сомнений как с теоретической, так и с практической точек зрения.

Диссертация Уколова А.И. имеет **традиционную структуру** и включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть, обсуждение результатов, выводы и список цитируемой литературы. Работа содержит большое количество иллюстративного материала, что облегчает понимание и анализ полученных результатов и найденных закономерностей.

Обстоятельный, аналитический **обзор литературы** в полной мере отражает современное состояние методов обнаружения и идентификации биомаркеров экспозиции и биомаркеров эффекта. Особое внимание уделено использованию метаболического профилирования в токсикологии. Подробно рассмотрены инструментальные методы метаболического профилирования и математическая обработка результатов метаболического профилирования.

Разработка нового направления методологии хромато-масс-спектрометрического анализа биологических объектов, включающей метод расширенного токсиколого-аналитического скрининга, методики определения экзогенных веществ и методики метаболического профилирования биологических образцов, позволяющая устанавливать пути биотрансформации и механизмы действия ранее не изученных ксенобиотиков в организме является основной целью диссертационной работы. Автором усовершенствован метод расширенного скрининга биологических объектов для повышения надежности безэталонной идентификации при выявлении экзогенных веществ и их метаболитов.

Большинство данных систематизировано в виде рисунков и таблиц, что значительно облегчает поиск необходимой информации. Качество выполненного аналитического обзора литературных данных подтверждается большим числом цитированных в нём работ (544 ссылки).

Научная новизна проведенных исследований и полученных результатов заключается в том, что автором, в частности, предложен и обоснован метод расширенного токсиколого-аналитического скрининга с автоматической обработкой масс-хроматограмм, включающий твердофазную микроэкстракцию, а также экстракционное вымораживание с последующей дериватизацией целевых аналитов агентами – N-метил-N-триметилсилилтрифторацетамидом, иодметаном, трифторацетиллом, N-(трет-бутилдиметилсилил)-N-метилтрифторацетамидом и уксусным ангидридом для определения летучих соединений в паровой фазе. Для повышения информативности результатов биоаналитического мониторинга впервые проведена оценка токсикокинетических характеристик E-1,4-дихлор-2-бутена, дисульфида углерода, метакрилонитрила, метилпаратиона, пен-

тахлорэтана, аллилхлорида, акрилонитрила, бутилхлорида, хлорацетонитрила, этилметакрилата, метилакрилата, метилметакрилата, нитробензола, 2-нитропропана и гексахлорэтана.

Практически значимым результатом работы является то, что методика расширенного токсиколого-аналитического скрининга внедрена в практику отдела токсикологии НИИ ГПЭЧ и апробирована в отделении токсикологии НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе. Разработанная "Стандартная процедура идентификации токсичных и сильноедействующих соединений в биологических пробах методами газовой и жидкостной хромато-масс-спектрометрии" включена в методические рекомендации "Процедура проведения количественного хромато-масс-спектрометрического анализа токсичных и сильноедействующих веществ в биологических объектах", утвержденные ФМБА. «Методика измерений массовых концентраций летучих экотоксикантов в биологических пробах методом газовой хромато-масс-спектрометрии» и «Методика измерений массовых концентраций фосфорорганических пестицидов методом газовой хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием» аттестованы и рекомендованы к применению в лабораториях химико-токсикологического профиля.

Вторая глава диссертации посвящена подробному описанию проведенного автором эксперимента.

В третьей главе автором диссертации дано строго аргументированное и исчерпывающее обсуждение и объяснение полученных результатов.

Резюмируя выполненный анализ основной части диссертации Уколова А.И., можно заключить, что все представленные на защиту **положения и результаты являются новыми** и представляют большой **теоретический и практический интерес**.

Достоверность полученных в диссертации результатов и выводов подтверждается их согласием с данными литературы, внутренней непротиворечивостью результатов эксперимента с данными теоретических расчетов, выраженным физическим смыслом полученных величин и закономерностей, адекватным использованием совокупности современных методов физико-химического исследования и математического описания сложных физико-химических процессов. Обсуждение полученных результатов выполнено с использованием классических подходов, что свидетельствует о высоком методическом уровне проведенного научного исследования.

Уколов А.И. является сложившимся специалистом в области аналитической химии.

Работа прошла **хорошую апробацию**. Результаты и выводы диссертации доложены и обсуждены на представительных международных, российских и региональных конференциях. Автор диссертации неоднократно выступал с устными сообщениями на про-

фильных конференциях как в нашей стране, так и за рубежом. По материалам диссертации опубликовано 50 работ, в том числе 21 статья, 2 главы в монографиях, двое методических рекомендаций, 25 работ, опубликованных в материалах Всероссийских и международных конференций и симпозиумов.

Работа Уколова А.И. хорошо структурирована, подробно изложена и аккуратно оформлена. **Автореферат и публикации полностью отражают** содержание диссертации, соответствующей паспорту научной специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Несмотря на безусловно положительное впечатление, диссертационная работа не лишена отдельных **недостатков**:

1. Правомерность защиты представленной диссертации по специальности «Аналитическая химия» не вызывает сомнений. Однако, следует отметить во многом прикладной характер работы, который очень важен для аналитической токсикологии.
2. Два последних положения научной новизны скорее относятся к практической значимости работы.
3. Гидроксиламин не является компонентом ракетного топлива, как указано в таблице 38.
4. Величину относительного стандартного отклонения лучше указывать в долях, а не в процентах.

Сделанные замечания не снижают общей, безусловно, положительной оценки диссертационного исследования Уколова А.И. и могут по ряду позиций рассматриваться как элемент научной дискуссии.

Результаты работы могут быть использованы в проведении научных исследований в в Кубанском государственном университете (г.Краснодар), Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова (г. Москва), Санкт-Петербургском государственном университете (г. Санкт-Петербург), а также в учебных курсах по аналитической хроматографии. Спектр потенциальных областей применения результатов работы весьма широк. Предложенная методология может быть распространена на другие медико-биологические НИИ, центры профпатологии, центры Роспотребнадзора, токсикологические лаборатории и использована для биоаналитического мониторинга населения и персонала производств нефтегазовой отрасли, производства пестицидов, перепрофилируемых бывших объектов уничтожения химического оружия, ракетно-космической отрасли и прочих химически опасных производств. Две методики аттестованы и рекомендованы к применению в лабораториях химико-токсикологического профиля. Степень достоверности исследования достигается использова-

нием современного аналитического оборудования, валидированных и аттестованных методик, достаточным числом исследованных объектов, формированием групп сравнения и контроля, и применением современных методов статистической обработки.

Диссертационная работа Уколова Антона Игоревича "Хроматомасс-спектрометрическая методология определения биомаркеров вредных химических веществ при расследовании обстоятельств острых и хронических отравлений" по объему и качеству выполненных исследований, актуальности поставленной задачи, новизне, достоверности и научной обоснованности полученных результатов и выводов полностью соответствует требованиям пунктов 9 и 10 "Положения о присуждении ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842, как научная квалификационная работа, в которой содержится решение важных теоретических и практических задач, а сам диссертант заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Официальный оппонент:
Член-корреспондент РАН, д.х.н.,
профессор кафедры аналитической химии
химического факультета МГУ
имени М.В. Ломоносова, заведующий
лабораторией хроматографии
(119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы,
МГУ, д.1, стр.3, химический факультет,
кафедра аналитической химии;
e-mail: shpigun@analyt.chem.msu.ru,
тел.: (495)939-13-82

Олег Алексеевич Шпигун

23.09.2019

Я, Олег Алексеевич Шпигун, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Подпись О.А. Шпигуна заверяю

И.о. декана химического факультета
Член-корр. РАН, профессор



С.Н.Калмыков