

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Орловой Ольги Игоревны на тему «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.

Важность разработки и совершенствования различных методик определения метаболитов (биомаркеров) токсичных химикатов (сернистого иприта) в биологических объектах связана с периодически возникающей необходимостью как экстренного, так и ретроспективного установления фактов воздействия токсичных химикатов на организм человека и животных. Последнее, в свою очередь, вытекает из положений Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении.

Сернистый иприт является одним из немногих токсичных химикатов военного назначения, от воздействия которого отсутствует антидот. В свою очередь алкилирующее действие сернистого иприта на ДНК достаточно хорошо изучено. На этом основании сернистый иприт представляет собой оптимальную экспериментальную модель для аналитических исследований, направленных на разработку и применение методик определения метаболитов в биопробах, в том числе и в условиях терапии протекторами (скавенджерами).

Одним из наиболее перспективных направлений в рассматриваемом аспекте являются исследования степени и характера химических взаимодействий между алкилирующим агентом, протектором (скавенджером) и внутренними системами организма.

Автор справедливо отмечает, что на современном этапе назрела необходимость формирования общего подхода к определению в биопробах аддуктов алкилирующих агентов с ДНК.

Это определяет актуальность диссертационного исследования автора, цель которого состоит в разработке аналитической схемы хромато-масс-спектрометрического анализа биологических образцов и методического обеспечения молекулярного биомониторинга генотоксического действия алкилирующих агентов на примере-сернистого иприта в условиях терапии скавенджером (ацетилцистеином).

Научная новизна работы заключается в следующем.

Разработана методика 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.

В соответствии со стремлением автора сформировать общий подход к определению аддуктов различных алкилирующих агентов с ДНК в биопробах показана возможность определения кинетических профилей аддуктов ДНК с лекарственными препаратами алкилирующего действия на примере циклофосфида. Определены основные продукты взаимодействия активного метаболита циклофосфида с ДНК, получены их масс-спектральные характеристики. Предложена аналитическая схема изучения кинетики выведения аддуктов циклофосфида с ДНК в условиях терапии АЦЦ и в отсутствие терапии.

Практическая значимость проведенных исследований заключается в том, что полученные автором сведения о влиянии скавенджера на объем наносимых повреждений и кинетику выведения аддуктов ксенобиотиков с ДНК могут оказаться весьма полезными при терапии поражений сернистым ипритом, а также при оценках сроков воздействия в ходе расследования возможных инцидентов с применением химического оружия. Показана возможность переноса методики в медицинскую область для определения аддуктов ДНК с лекарственными препаратами, обладающими алкилирующим действием. Методики обеспечивают возможность персонализированного подхода к терапии и детоксикации.

Разработанные методики определения аддуктов сернистого иприта с ДНК и ацетилцистеином в моче включены в сборник рабочих процедур «Лаборатории химико-аналитического контроля и биотестирования» как часть научно-методического обеспечения участия российских лабораторий в международных профессиональных тестах ОЗХО по анализу биопроб.

Интересными и важными как в отношении научной новизны, так и практической значимости являются полученные автором в 5 разделе (стр. 19-20) экспериментальные результаты, согласно которым ацетилцистеин (АЦЦ) не оказывает протективного действия на циклофосфид, а, напротив, усиливает его повреждающее действие на ДНК. Интересными являются и дальнейшие мысли автора по этому поводу, свидетельствующие о достаточно высоком уровне научного мышления.

Положения, выносимые нам защиту, судя по материалам автореферата, являются обоснованными и отражают основные моменты диссертационного исследования.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения и подтверждается сходимостью теоретических и экспериментальных данных, согласованностью с результатами авторитетных авторов, работающих в близких областях.

Обоснованность научных выводов и рекомендаций обеспечивается применением стандартных статистических методик обработки полученных результатов, современных физико-химических методов анализа (ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения, спектроскопии ЯМР) для установления структуры соединений, использованием метрологически аттестованных приборов.

Результаты выполненной работы в достаточной степени апробированы как в публикациях, так и докладах на международных и всероссийских конференциях, что позволяет говорить об обоснованности полученных автором теоретических и экспериментальных данных и самостоятельном проведении диссертационного исследования.

Автореферат диссертации хорошо оформлен и оставляет приятное впечатление своей структурированностью, хорошим, четким и ясным научным языком, логичностью изложения материалов исследования.

По тексту автореферата имеются некоторые замечания.

1. На страницах 7 и 8 автореферата два раза и в сходных выражениях упоминается, что обоснован выбор аддукта N7-НЕТЕГ в качестве биомаркера воздействия сернистого иприта на ДНК. К сожалению, автор в обоих случаях не упоминает, на чем основывался этот выбор. Если основная причина состоит в том, что N7-НЕТЕГ является основным продуктом взаимодействия иприта с ДНК (стр. 6), то это необходимо указать.

2. На стр.9 автореферата указывается, что содержание основного вещества в очищенном образце биомаркера N7-НЕТЕГ было установлено методом ЯМР и составляло 90 %. Не вполне понятно, как это количественное определение могло быть проведено, потому желательны достаточно подробные комментарии автора с учетом того, что при использовании какой-либо модификации ЯМР-спектроскопии сигнал дают только соединения, содержащие ядра соответствующего типа, а также очень близкого сходства спектров ЯМР¹N аддуктов N7-НЕТЕГ и, например, N3-НЕТЕА (стр. 6) и т.д.

Перечисленные замечания носят частный характер и не ставят под сомнение полученные автором научные результаты, теоретические выводы и практические рекомендации, изложенные в автореферате.

Диссертационная работа Орловой Ольги Игоревны представляет собой законченное научное исследование, в котором решена важная научная задача, заключающаяся в разработке методического обеспечения молекулярного биомониторинга генотоксического действия алкилирующих агентов на примере сернистого иприта в условиях терапии скавенджером (ацетилцистеином).

Хотелось бы также отметить, что в результате исследований, проведенных диссертантом, сделан большой и реальный шаг к созданию общего подхода к определению в биопробах, в частности в моче, аддуктов разнообразных алкилирующих агентов с ДНК,

Вывод:

Диссертационная работа по своему содержанию, актуальности, научной новизне и практической значимости полученных в ней результатов соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным требованиями пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор Орлова Ольга Игоревна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 - Аналитическая химия.

Доктор химических наук, профессор



Морозик Юрий Иванович

Телефон +74942399763

Адрес электронной почты: morozik_y@mail.ru

Кандидат химических наук, доцент



Галяев Григорий Викторович

Телефон +74942399763

Адрес электронной почты: grixachem1@rambler.ru

Подписи Морозика Ю.И. и Галяева Г.В «удостоверяю»

Начальник отдела кадров



Изотенков Алексей Александрович



Федеральное государственное казённое военное образовательное учреждение высшего образования (ФГКВОУ ВО) «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К.Тимошенко» (г. Кострома) Министерства обороны Российской Федерации. 156013, г. Кострома, ул. Горького, д.16.

« 16 » 03 2020 г.