ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента Хамидулиной Халиды Хизбулаевны, руководителя Научно-исследовательского аналитического центра «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, заведующей кафедрой гигиены ФГАОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, на диссертационную работу Якуповой Татьяны Георгиевны «Экспериментальное обоснование применения комплексных соединений оксиметилурацила для профилактики токсических эффектов акриламида», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.4. Медицина труда в диссертационный совет 24.1.176.01 при ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н. Ф. Измерова».

Актуальность темы диссертационного исследования

Проблема сохранения здоровья лиц, работающих в условиях воздействия химических факторов производственной среды, остаётся одним из приоритетных направлений медицины труда и профилактической токсикологии. Наряду с гигиеническим нормированием, совершенствованием технологических процессов и средствами коллективной защиты существенное значение приобретает изучение ранних биологических эффектов промышленно значимых ксенобиотиков. Выявление молекулярных и функциональных изменений, предшествующих формированию выраженной органной патологии, создаёт научную основу для совершенствования профилактических мероприятий и обоснования дополнительных подходов к снижению последствий химической экспозиции.

Акриламид относится к веществам, заслуживающим пристального внимания с позиций гигиены труда: он широко применяется при производстве полимеров и сополимеров, может поступать в организм при ингаляционном и кожном контакте, обладает выраженным нейротоксическим потенциалом и отнесён Международным агентством по изучению рака к группе 2А – веществам, вероятно канцерогенным для человека. Его биологическое

действие не ограничивается одним органом-мишенью. Существенную роль играют биотрансформация с образованием реакционноспособного глицидамида, нарушение тиолового обмена, окислительно-восстановительного гомеостаза, повреждение генетического аппарата и изменения регуляции клеточной гибели.

Принципиально важным является то, что выраженность неблагоприятного эффекта определяется не только величиной поступающей дозы, но и длительностью её действия. Для практической токсикологии это означает необходимость исследования как раннего ответа клетки, так и последствий повторного воздействия токсиканта. Изолированная оценка стандартных биохимических показателей не всегда позволяет проследить последовательность формирования повреждения или отличить компенсаторные реакции от прогрессирования патологического процесса.

В представленной диссертации предпринята попытка решить указанную научную задачу посредством сочетания моделей in vitro и in vivo и сравнительного исследования соединений оксиметилурацила с различными компонентами. При этом поиск способов профилактической коррекции не противопоставляется основным требованиям химической безопасности и снижению экспозиции, а рассматривается как дополнительное научное направление. Поэтому актуальность выбранной темы для профилактической токсикологии, медицины труда и экспериментального обоснования мер по сохранению здоровья работников химических производств не вызывает сомнений.

Научная новизна и теоретическая значимость полученных результатов

Существенным результатом исследования является последовательное сопоставление клеточных и организменных проявлений акриламидной интоксикации в зависимости от режима воздействия. Автор изучает не только конечные признаки токсического повреждения, но и ранние изменения клеточного ответа, что позволяет рассматривать акриламидную интоксикацию как развивающийся во времени многоуровневый процесс. Такая постановка вопроса представляет научный интерес с точки зрения установления связи между дозой, продолжительностью экспозиции, молекулярными нарушениями и функциональными проявлениями токсического действия.

В клеточных экспериментах получены данные о концентрационной зависимости угнетения метаболической активности клеток линии МН-22а, о кинетике перекисного ответа в клеточной модели IAR-2-HyPer и о накоплении ДНК-повреждений при увеличении времени контакта с акриламидом. Особого внимания заслуживает наблюдение, согласно которому при 72-часовом воздействии значимое повышение показателя повреждения ДНК фиксируется уже при концентрации 0,1 мМ, тогда как при меньшей продолжительности для получения сопоставимого эффекта требуются более высокие концентрации. Это подчёркивает значение временного компонента в формировании генотоксического ответа и перспективность включения показателей повреждения ДНК в многоуровневые экспериментальные схемы оценки опасности химических веществ.

К числу результатов, расширяющих существующие представления о механизмах токсического действия акриламида, относится характеристика экспрессии 11 генов, связанных с антиоксидантной защитой, II фазой детоксикации, ответом на повреждение ДНК и регуляцией клеточной гибели. Исследование *Nfe2l2, Sod1, Hmox1, Nqo1, Gclc, Gstm1, Gstp1, Gstt1, Chek1, Casp7* и *Ripk1* в тканях печени и почек позволило выявить тканевые и временные особенности молекулярного ответа. Приведённые автором данные показывают, что изменения экспрессионного профиля могут регистрироваться на фоне сравнительно умеренных морфологических проявлений. Полученные результаты важны для дальнейшей разработки экспериментальных панелей маркеров раннего токсического ответа, хотя их диагностическое использование у работников потребует самостоятельной валидации.

Отдельного внимания заслуживает сопоставление трёх комплексных соединений: МГ-1 – оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой, МГ-2 – с сукцинатом натрия и МГ-10 – с ацетилцистеином. Автором выявлена неоднородность их действия в различных экспериментальных моделях. Наиболее последовательные положительные изменения по совокупности исследованных биохимических, гематологических и отдельных молекулярных параметров отмечены на фоне МГ-10. Вместе с тем полученные результаты не дают оснований рассматривать его эффект как универсальный: выраженность и направленность изменений зависели от концентрации, продолжительности воздействия и оцениваемого показателя. Именно

выявление такой зависимости, а не только выделение предпочтительного соединения, представляет самостоятельную научную ценность.

Теоретическая значимость диссертации заключается в уточнении представлений о сочетанном участии оксидативных, генотоксических и регуляторных механизмов в ответе на промышленно значимый ксенобиотик, а также в демонстрации органоспецифичности и стадийности этого ответа. Работа создаёт основу для дальнейшего изучения границ адаптивно-компенсаторных реакций и поиска критериев, позволяющих отличать биологическую модификацию токсического эффекта от его действительного предупреждения.

Практическая значимость результатов исследования

Практическая направленность работы определяется, прежде всего, возможностью использования полученных экспериментальных данных при совершенствовании методических подходов к изучению химической опасности. Показана целесообразность комплексной оценки действия акриламида, включающей определение жизнеспособности клеток, повреждений ДНК, ранних редокс-сдвигов, показателей системного метаболического ответа и экспрессии генов детоксикационной и антиоксидантной защиты. Такой подход представляет интерес для сравнительного скрининга токсических и потенциально протективных свойств соединений.

Выделение МГ-10 как наиболее перспективного объекта последующего доклинического изучения имеет прикладную значимость, поскольку ориентирует дальнейшие исследования на конкретное соединение и одновременно указывает на необходимость изучения его безопасного концентрационного диапазона. Данные о частичном снижении ДНК-повреждений в клеточной модели и об отдельных благоприятных изменениях у экспериментальных животных следует рассматривать как обоснование следующего исследовательского этапа, а не как доказательство эффективности готового профилактического препарата для человека. Работа не содержит оснований для непосредственного включения исследованных комплексов в программы медицинской профилактики у работников.

Заслуживает упоминания использование материалов исследования при подготовке патента Российской Федерации № 2843373 «Способ определения дозы перорального поступления акриламида у крыс» от 30 октября 2024 года. Полученные результаты также могут быть востребованы в образовательной и научно-методической работе по промышленной токсикологии, гигиеническому нормированию химических веществ и оценке ранних эффектов воздействия ксенобиотиков. Вопросы переноса экспериментальных результатов на условия реальной производственной экспозиции требуют дальнейшего изучения с учётом путей поступления вещества и уровней внутренней дозы.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций

Исследование построено на применении взаимодополняющих методических подходов. В экспериментах *in vitro* использованы МТТ-тест на клетках МН-22а, регистрация внутриклеточного H_2O_2-зависимого сигнала при помощи биосенсора HyPer и щелочной вариант метода ДНК-комет. Эксперимент *in vivo* выполнен на 120 лабораторных крысах при трёх режимах введения акриламида: остром (150 мг/кг однократно), подостром (20 мг/кг на протяжении 28 суток) и хроническом (5 мг/кг на протяжении 90 суток). Промежуточная оценка на 45-е сутки хронического эксперимента позволила сопоставить показатели в динамике.

Система критериев включала поведенческие реакции, массу тела и весовые коэффициенты органов, показатели клинического и биохимического анализа крови, компоненты антиоксидантной системы, экспрессию генов печени и почек и морфологическое исследование этих органов. Результаты представлены с использованием количественных показателей и статистической обработки, в том числе дисперсионного анализа, множественных сравнений, а для временной динамики биосенсорного сигнала – моделей с учётом повторных наблюдений. Данный комплекс методов в целом соответствует поставленным задачам и позволяет проводить сопоставление эффектов на нескольких уровнях организации биологической системы.

Положительно следует оценить наличие интактного и положительного контроля, изучение нескольких режимов токсического воздействия и сравнение трёх составов профилактической коррекции. Соблюдение требований биоэтики подтверждено приведёнными в работе сведениями об одобрении исследования локальным этическим комитетом (протокол № 2 от 20 января 2021 года). В то же время корректная научная интерпретация требует учитывать отсутствие полного совпадения направленности эффектов по отдельным органам и показателям, а также различие используемых доз корректирующих соединений. С учётом этих ограничений основные выводы, относящиеся к экспериментально установленным закономерностям, имеют достаточную фактическую основу.

Оценка содержания и структуры диссертационной работы

Диссертация изложена на 180 страницах, включает введение, четыре главы, заключение, выводы, список сокращений и библиографический список из 137 источников, в том числе 95 отечественных и 42 зарубежных. В тексте представлены 15 таблиц и 70 рисунков. Структура исследования соответствует логике решения поставленных задач: от анализа современного состояния вопроса и разработки экспериментального дизайна до сопоставления токсических и профилактических эффектов и их итоговой интерпретации.

Во введении обоснована актуальность темы для медицины труда, сформулированы цель и пять исследовательских задач, представлены положения научной новизны, теоретической и практической значимости и сведения об апробации результатов. В первой главе систематизированы сведения о производственных факторах химической промышленности, путях поступления и токсикокинетике акриламида, его нейротоксических, генотоксических и других неблагоприятных свойствах. Рассмотрены современные представления о роли глутатионовой системы, Nrf2-зависимого ответа, митохондриальной дисфункции и механизмов клеточной гибели, что формирует достаточно полное теоретическое основание для экспериментальной части работы.

Вторая глава содержит описание клеточных линий, методов исследования и схем введения акриламида и комплексов оксиметилурацила. Представлена организация контрольных и опытных групп, сроки оценки,

методы биохимического, морфологического и молекулярно-генетического анализа. Профилактические соединения вводили за час до воздействия токсиканта; для МГ-1 и МГ-2 использовали дозы 50 мг/кг, для МГ-10 – 500 мг/кг. Выбранный дизайн позволяет сравнить эффекты в заранее заданных экспериментальных режимах. Вместе с тем значительное различие доз является обстоятельством, которое необходимо учитывать при интерпретации сравнительной эффективности соединений.

В третьей главе показано, что при высокой концентрации акриламида резко уменьшается метаболическая активность клеток МН-22а; рассчитанное значение IC50 составило 0,89 моль/л. Использование биосенсора HyPer позволило описать быстрый и нелинейный характер перекисного ответа: при воздействии 0,125 и 0,25 моль/л акриламида отмечался прирост сигнала примерно на 24 и 31% соответственно. Добавление оксиметилурацила изменяло амплитудно-временные характеристики этого ответа, однако не во всех режимах сопровождалось снижением биосенсорного сигнала, что требует осторожности при определении биологической направленности данного эффекта.

По данным ДНК-комет, кратковременное воздействие акриламида в концентрации 10 мМ сопровождалось увеличением процента ДНК в хвосте кометы, при 24-часовом воздействии значимые изменения отмечались при концентрации 1 мМ, а через 72 часа – уже при 0,1 мМ. Существенным результатом является выявление ограниченного диапазона генопротекторного действия МГ-10: при концентрациях 1400 и 2810 мкМ показатель повреждения ДНК снижался по сравнению с положительным контролем, однако полного возвращения к интактному уровню не происходило. При повышении концентрации соединения до 5620 и 11240 мкМ наблюдалось, напротив, увеличение ДНК-повреждений. Это важное наблюдение для последующего токсикологического обоснования безопасных режимов применения исследуемых соединений.

Четвёртая глава посвящена системным проявлениям акриламидной интоксикации. При однократном введении токсиканта автором выявлены изменения, прежде всего отражающие нарушения гепаторенального и метаболического статуса: активность АСТ повышалась до 287,66 Ед/л по сравнению с 219,23 Ед/л в интактном контроле. На фоне МГ-10 активность АСТ снижалась до 211,07 Ед/л. Отдельные изменения экспрессии *Gstt1, Gstp1,*

Casp7 и других генов подтверждают формирование раннего молекулярного ответа. При подостром воздействии регистрировались нарушения ориентировочно-исследовательского поведения, снижение вертикальной двигательной активности и норкового рефлекса, а также уменьшение количества эритроцитов и гемоглобина. При этом выраженность коррекции нейроповеденческих и гематологических показателей различалась между группами и не всегда достигала полной нормализации.

Интерес представляют данные о динамике хронической интоксикации. На 45-е сутки выраженных изменений большинства исследованных показателей не выявлялось, однако сохранялись отдельные гематологические, биохимические и молекулярные сдвиги. К завершению 90-дневного опыта установлены межгрупповые различия по активности АЛТ и отдельным показателям крови. На фоне МГ-10 активность АЛТ снижалась до 37,92 Ед/л, а гематокрит достигал 52,08%. Важным является не только наличие благоприятных эффектов, но и их избирательность: результаты морфологической оценки указывают на уменьшение выраженности некоторых изменений печени при профилактической коррекции, тогда как убедительных доказательств нефропротекторного действия всех трёх комплексов при подострой интоксикации не получено.

Сопоставление материалов третьей и четвёртой глав позволяет заключить, что действие комплексов оксиметилурацила существенно зависит от модели и уровня оцениваемого ответа. В диссертации показана перспективность МГ-10 по совокупности результатов, но также представлены данные, ограничивающие возможность безусловно положительной оценки его действия. Такое сочетание результатов повышает ценность исследования для дальнейшей работы по изучению механизма, безопасности и оптимального режима профилактической коррекции химически индуцированных нарушений.

Личный вклад автора, апробация и публикации по теме диссертации

Представленные сведения свидетельствуют о значительном личном участии соискателя на основных этапах исследования. Автором выполнены анализ литературы, формулирование цели и задач, обработка и интерпретация полученных результатов и подготовка научных публикаций. В диссертации

указано, что доля соискателя в сборе и обработке эмпирического материала превышает 90%. Это позволяет оценить работу как самостоятельное научно-квалификационное исследование, выполненное в рамках деятельности научного коллектива.

Основные результаты исследования докладывались на научно-практических конференциях по гигиене, токсикологии и медицине труда, включая конференции «Здоровая среда» (Уфа, 2023, 2024, 2026), «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2024–2026), профильные научные мероприятия в Новосибирске и Санкт-Петербурге (2024), Уфе и Нижнем Новгороде (2025). По теме диссертации опубликовано 28 научных работ, включая 15 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ; согласно автореферату, шесть из этих публикаций индексируются в Scopus. Представленность результатов в рецензируемых изданиях и их обсуждение в научном сообществе свидетельствуют о достаточной апробации основных положений работы.

Исследование выполнено в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2021–2025 годы и тематики НИОКТР № 121062100058-8 «Научное обоснование подходов к оценке токсического действия ксенобиотиков на основе клеточных технологий и модельных объектов». Данные сведения подтверждают соответствие работы актуальным направлениям экспериментальной токсикологии и медико-биологических исследований, связанным с обеспечением химической безопасности.

Соответствие автореферата содержанию диссертации

Автореферат содержит характеристику актуальности исследования, цели, задач, научной новизны и практической значимости, описание применённых методов, основные результаты экспериментов in vitro и in vivo, выводы и сведения о публикациях. В нём воспроизведены основные закономерности дозо- и времязависимого повреждения, результаты сравнительной оценки комплексов МГ-1, МГ-2 и МГ-10 и принципиальные ограничения эффективности изученных соединений. В целом автореферат соответствует основному содержанию диссертации и отражает её

существенные результаты в объёме, необходимом для ознакомления с представленной работой.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

Положительно оценивая актуальность, методическую обеспеченность и научные результаты диссертации, считаю необходимым обратить внимание на отдельные вопросы, представляющие интерес для их дальнейшего обсуждения и развития проведённого исследования.

1. При сравнительном изучении профилактической эффективности МГ-1 и МГ-2 использованы дозы 50 мг/кг, а для МГ-10 – 500 мг/кг. В какой мере выявленное преимущество МГ-10 может быть связано с составом комплекса и действием ацетилцистеина, а в какой – с десятикратным различием введённых доз? Рассматривалась ли возможность сравнения соединений в эквимолярных или предварительно обоснованных эквиэффективных дозах?

2. В подостром эксперименте морфологическая характеристика почек у животных, получавших корректирующие соединения, включает более выраженные сосудистые, клубочковые и канальцевые изменения, чем в группе воздействия одного акриламида. Каким образом автор интерпретирует эти результаты? Возможно ли, что часть изменений связана с собственным действием корректоров, и целесообразно ли в дальнейшем предусмотреть дополнительные группы, получающие комплексы без акриламида?

3. В эксперименте *in vitro* для МГ-10 установлено снижение показателя повреждения ДНК лишь в ограниченном интервале концентраций, тогда как при более высоких концентрациях уровень повреждений увеличивался. Какие исследования автор считает необходимыми для определения терапевтического диапазона, характеристики возможных прооксидантных эффектов и обоснования безопасности длительного профилактического применения комплекса?

4. При анализе HyPer-сигнала добавление оксиметилурацила в ряде условий сопровождалось усилением и пролонгацией перекисного ответа. Можно ли по результатам проведённого эксперимента разграничить адаптивную редокс-сигнализацию и неблагоприятное усиление оксидативного стресса? Какие дополнительные показатели позволили бы провести такую дифференциацию?

5. В работе выявлены перспективные изменения экспрессии генов антиоксидантной защиты и детоксикации, однако исследование проведено на клеточных культурах и экспериментальных животных. Какие этапы валидации, включая сопоставление с биомаркерами внутренней дозы акриламида и оценку специфичности по отношению к другим химическим факторам, необходимы для возможного использования этих показателей в гигиенической оценке профессионального риска?

Указанные вопросы носят научно-дискуссионный характер, преимущественно касаются перспектив дальнейшего развития исследования и уточнения границ интерпретации полученных результатов. Они не отменяют значимости выполненной экспериментальной работы и её вклада в решение поставленной научной задачи.

Заключение о соответствии диссертации требованиям Положения о присуждении учёных степеней

Диссертационная работа Якуповой Татьяны Георгиевны «Экспериментальное обоснование применения комплексных соединений оксиметилурацила для профилактики токсических эффектов акриламида», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.4. Медицина труда (биологические науки), является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основе комплекса клеточных и экспериментально-токсикологических исследований решена значимая научная задача – получены новые данные о закономерностях и механизмах токсического действия акриламида и экспериментально обоснованы перспективные подходы к профилактической коррекции его неблагоприятных эффектов.

Исследование обладает научной новизной, имеет теоретическое значение для понимания генотоксических, окислительно-восстановительных и молекулярно-регуляторных механизмов химически индуцированного повреждения и представляет практический интерес для развития методов профилактической токсикологии. На основании сравнительного анализа трёх комплексных соединений оксиметилурацила выделен МГ-10 как перспективный объект дальнейшего доклинического изучения. Представленные положения и выводы в целом обоснованы полученными

экспериментальными данными; высказанные замечания не изменяют общей положительной оценки диссертации.

По актуальности темы, объёму и характеру экспериментальных исследований, научной новизне, степени обоснованности и достоверности основных положений диссертационная работа соответствует требованиям пунктов 9-14 Положения о присуждении учёных степеней, утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Якупова Татьяна Георгиевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.4. Медицина труда.

Официальный оппонент:

Руководитель Научно-исследовательского аналитического центра
«Российский регистр потенциально опасных химических
и биологических веществ» ФБУН «ФНЦГ им. Ф. Ф. Эрисмана»
Роспотребнадзора; заведующая кафедрой гигиены
ФГБОУ ДПО «РМАНПО» Минздрава России,
доктор медицинских наук, доцент

_____ Хамидулина Халидя Хизбулаевна

«30» _____октября_____ 2026 г.

Подпись доктора медицинских наук Хамидулиной Х. Х. заверяю:

_____ _____

Начальник отдела кадров

ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана»

Роспотребнадзора _____ Плохушко Вячеслав Александрович

«30» _____октября_____ 2026 г. М. П.

Сведения об организации для заверения подписи:

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора. 141014, Московская область, г. Мытищи, ул. Семашко, д. 2. Телефон: +7 (495) 586-11-44; e-mail: Khamidulina.KhKh@fncg.ru.