

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора

ШИЛОВА ВИКТОРА ВАСИЛЬЕВИЧА

на диссертационную работу **Журба Ольги Михайловны** «Научно-методические основы биологического мониторинга хлорорганических соединений и их метаболитов у работников в производстве винилхлорида и поливинилхлорида», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.4. Медицина труда

Актуальность выполненного исследования. Устойчивое развитие химикоёмких отраслей промышленности определило порядка 120 веществ и материалов, приоритетных для экономики России и представляющих опасность для здоровья трудоспособного населения, куда входят и хлорорганические соединения. Сегодня в Российской Федерации действует ряд крупных предприятий по производству винилхлорида (ВХ) и поливинилхлорида (ПВХ), где сохраняется непрерывная положительная динамика производства, что способствует насыщению внутреннего рынка товарами российского производства в соответствии с Указом Президента РФ от 2 июля 2021 г. № 400 «О Стратегии национальной безопасности Российской Федерации» п. 63.

Определение химических веществ в воздухе рабочей зоны позволяет оценить их концентрацию в конкретное время и на конкретном месте и не дает исчерпывающего представления о количестве вещества, фактически поступившего в организм. В данной ситуации биологический мониторинг позволяет учесть все эти факторы путем измерения концентрации химических веществ или их метаболитов в биологическом материале человека. Можно отметить цитированные автором исследования (Albertini P. et al., 2003; Guido M. et al., 2016; Scarnato C. et al., 2017; Катаманова Е.В. с соавт., 2018), в которых представлены данные о негативном производственном воздействии винилхлорида и 1,2-дихлорэтана на организм работников, отмечается, что вопросы метаболизма и кинетики данных токсикантов изучены не достаточно (Dogliotti E. et al., 2006; Gwinn M.R. et al., 2011).

В настоящее время остаются нерешенными вопросы к обоснованию наиболее информативных биомаркеров экспозиции винилхлорида и 1,2-дихлорэтана, отсутствуют современные информативные аналитические методы, позволяющие идентифицировать вещества и количественно осуществлять анализ сложных биологических матриц на содержание винилхлорида, 1,2-дихлорэтана и их метаболитов. Кроме этого отсутствуют работы по биомониторинговым исследованиям экскреции с мочой метаболитов хлорированных углеводов в условиях производства.

Развитие аналитических методов и технологий и переход к персонализированной медицине представляет несомненный интерес и перспективы с точки зрения поиска новых биомаркеров при токсической нагрузке на организм. В связи с этим, актуальность выполненного исследования О.М. Журба, нацеленного на создание комплекса новых технологий идентификации и определения токсикантов винилхлорида и 1,2-дихлорэтана и их низкомолекулярных метаболитов на основе разработанных газохроматографических методов, а также внедрения новых подходов для оценки вредного воздействия химических веществ представляется своевременным и актуальным.

Целью работы явилось научное обоснование и разработка способов идентификации и количественного определения хлорорганических токсикантов и продуктов их биотрансформации в биосредах для объективной оценки риска воздействия на организм работников в производстве винилхлорида и поливинилхлорида.

Автором разработан оригинальный дизайн исследования, состоящий из четырех этапов.

Первый этап включал изучение и анализ отечественного и зарубежного опыта по вопросам научно-методического обеспечения химико-аналитического контроля и биомониторинга хлорорганических соединений в биосредах; определение принципов и недостатков аналогов методик, автором проанализирован технологический процесс производства и

оценен химический фактор воздушной среды. Проведено ретроспективное и натурное изучение загрязнения воздуха рабочей зоны приоритетными загрязнителями с оценкой экспозиционных химических нагрузок токсикантами у работников производства хлористого винила и поливинилхлорида.

Второй этап – физико–химический, включал разработку и усовершенствование газохроматографических и хромато-масс-спектрометрических методов определения хлорорганических соединений и их метаболитов в биологических матрицах как предикторов воздействия экзогенных химических соединений, подбор оптимальных условий определения, стратегию пробоподготовки биологических объектов, оценку метрологических характеристик методик.

Третий этап - натурно–экспериментальный, включал исследования по изучению уровней содержания хлорорганических соединений и их метаболитов в биологических матрицах у лабораторных животных и работников химического комплекса.

Заключительный этап включал разработку концептуальной модели системы химико-аналитических исследований идентификации и количественного определения ксенобиотиков, связанных с воздействием химического фактора в производстве винилхлорида и поливинилхлорида

Диссертационная работа была выполнена в ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» в соответствии с планами НИР РК 01200803591 «Изучение механизмов формирования поражений нервной системы при воздействии производственных нейротоксикантов разной химической природы» и РК 01201355913 «Изучение механизмов формирования и прогрессирования нейродегенеративных и бронхо–легочных нарушений при воздействии промышленных токсикантов».

Научная новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Выполненное исследование обладает несомненными признаками научной новизны. Наиболее важными, на наш взгляд, являются следующие новые

знания: впервые выявлен характер формирования и динамики загрязненности воздушной среды приоритетными хлорорганическими токсикантами - винилхлоридом и 1,2-дихлорэтаном в процессе совершенствования производства винилхлорида и поливинилхлорида за 20-ти летний период; установлены экспозиционные нагрузки и показатели степени вредности и опасности воздействия химических веществ у работников в производстве винилхлорида и поливинилхлорида; впервые научно обоснованы и разработаны способы газовой хроматографии и газовой хроматографии с масс-селективным детектированием определения винилхлорида, 1,2-дихлорэтана и их метаболитов в биосредах, характеризующиеся высокой чувствительностью и селективностью определения; выявлено, что в исследованных образцах биопроб среди продуктов биотрансформации винилхлорида и 1,2-дихлорэтана преобладает тиодиуксусная кислота (ТДУК); установлена зависимость экскреции тиодиуксусной кислоты с мочой у работников от уровней экспозиции хлорорганических соединений, характера производства, занимаемой профессии и времени постконтактного периода, свидетельствующие о возможном использовании данного показателя как ключевого биомаркера экспозиции. Диссертантом предложена концептуальная модель системы химико-аналитического контроля содержания токсикантов и их метаболитов в биосредах на основе разработанных, аттестованных и апробированных новых методик при биомониторинговых исследованиях.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации обусловлена глубоким теоретическим анализом проблемы и системным подходом к исследованию указанной темы; достаточным объёмом собранного и рассмотренного материала: проанализировано 15582 проб воздуха рабочей зоны в 2-х производственных площадках (1996 – 2017 г.г.), при разработке физико-химических методов получено 9650 единиц информации, в натурных исследованиях принимали участие 114 работников химического комплекса (обоснованы критерии включения и исключения), получено 540 единиц

информации данных биопроб экспериментальных животных; четкой постановкой цели и определением основных задач исследования, репрезентативностью выборки и статистически достаточным объемом исследований; применением комплекса гигиенических, физико-химических, натурно-экспериментальных, клинико-лабораторных методов и методов статистической обработки, что подтверждает достоверность полученных результатов и выводов.

Следует отметить личный вклад автора, который является определяющим на всех этапах диссертационной работы: в выборе концепции, определении цели и задач, программы и дизайна исследования, обработке и интерпретации данных по загрязнению воздушной производственной среды, формировании исходных данных, апробации и разработке аналитических методов и обобщении полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту, выводы полностью соответствуют цели и задачам исследования, обоснованы и отражают полученные научные результаты с высокой степенью достоверности.

Апробация работы, публикации. Материалы работы широко апробированы на конференциях различного уровня в период с 2013 по 2021 годы. Научный приоритет исследований подтвержден объектом интеллектуальной собственности (патент RU 2496109 C2).

По теме диссертации опубликовано 52 печатных работы, из них 22 – в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов научных исследований; в изданиях, индексируемых в аналитических международных базах научного цитирования: Web of Science Core Collection – 4; Scopus – 10; 4 методических указания, 2 учебных пособия.

Соответствие содержания диссертации паспорту специальности.

Содержание диссертации соответствует п. 2 и п. 6 паспорта заявленной научной специальности 3.2.4. Медицина труда.

Значимость результатов диссертации для науки и практики.

Разработаны теоретические положения, определяющие современные направления научных исследований в области методического обеспечения при выполнении измерений высокотоксичных хлорорганических соединений в биосредах при профессиональном контакте с винилхлоридом. Важное теоретическое и практическое значение имеет установленная закономерность, описывающая процесс этерификации ТДУК в моче математическим путём. Полученные результаты математического планирования позволили выбрать необходимые оптимальные условия проведения этерификации ТДУК в моче при обработке образцов проб. Получены новые знания об особенностях идентификации и определения содержания в биосредах метаболитов винилхлорида и экскреции тиодиауксусной кислоты с мочой в зависимости от уровней экспозиции и времени постконтактного периода.

Результаты диссертационного исследования использованы при подготовке 4-х нормативно-методических указаний федерального уровня, утверждённых руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, позволяющих оценить комплексное поступление токсического вещества в организм. Использование разработанных методов вносит практический вклад в решение проблемы методического обеспечения медико-биологического мониторинга содержания исследуемых аналитов в биосредах.

Работа имеет социально-экономическое значение, так как внедрение новых высокочувствительных технологий определения токсикантов и их метаболитов в биосредах у работающих, при воздействии на организм вредных веществ позволит повысить качество диагностики, своевременно выявлять риски заболеваний для сохранения трудового потенциала России на ранних этапах их развития и претворить на практике концепцию персонализированной медицины.

В диссертации имеется 12 актов внедрения научной продукции. Научные и практические результаты востребованы в учебном процессе учреждений

высшего медицинского образования при подготовке медико-профилактического профиля, в том числе специалистов-профпатологов Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, в рамках интерактивных образовательных модулей «Химико-токсикологические исследования биологических объектов» и может быть реализована в других субъектах РФ.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность.

Структура диссертации традиционна: содержит «Введение», «Обзор литературы», главу «Объекты, материалы, методы и объем исследований», пять глав собственных исследований с обсуждением полученных результатов, «Заключение», «Выводы», «Список литературы», «Используемые сокращения и обозначения», 8 приложений. Диссертация написана хорошим литературным языком, достаточно последовательна, текст изложен на 300 страницах машинописного текста. Фактический материал иллюстрирован 69 наглядными рисунками и включает 57 таблиц, облегчающих восприятие полученных результатов. Список литературы содержит 408 источников, из них 186 зарубежных.

Введение диссертационной работы посвящено актуальности, степени разработанности темы исследования, определена цель работы и сформулированы основные задачи исследования, изложены научная новизна результатов исследования и их практическая значимость, представлены четыре положения, выносимые на защиту, данные о степени достоверности и апробации результатов, а также личный вклад автора.

Первая глава (*аналитический обзор литературы*) написан хорошим литературным языком, четко структурирован по подразделам. Обзор содержит данные отечественной и мировой литературы, с достаточной степенью отражающих изучение физико-химических и токсических свойств хлорированных углеводородов, особенности биотрансформации винилхлорида и 1,2-дихлорэтана и их негативном воздействии на организм человека и

экспериментальных животных. Показано, что вопросы методического обеспечения по определению винилхлорида и 1,2-дихлорэтана и их метаболитов в биологических средах решены недостаточно. Особое внимание автором уделено анализу существующих за рубежом методик, особенностям пробоподготовки, пределам обнаружения и условия анализа, что отражено в разделе работы 1.2. Указанные решения обладают следующими недостатками: использование в качестве реагента для получения производных токсичного, канцерогенного диазометана; низкие степени извлечения в процессе пробоподготовки, о чём свидетельствует предел обнаружения 1 мкг/см^3 при объёме пробы 5 см^3 с использованием масс-спектрометрического детектора и 10 мкг/см^3 при использовании пламенно-ионизационного детектора; продолжительная и трудоёмкая подготовка пробы во всех способах, требующая больших количеств особо чистых растворителей – метанола, диэтилового эфира, этилацетата

Обобщая данные аналитического обзора публикаций по теме, автор делает выводы, которые использованы для обоснования методического решения к проблеме по теме исследования.

Во **второй главе** освещены использованные автором основные методологические подходы к решению поставленных задач, включает описание используемых в работе методов исследования, материалов и оборудования, приведены характеристики реагентов, условий проведения эксперимента и натуральных исследований. Дана характеристика объекта, предмета исследования, периоды проведения исследования, изложены материалы и методы, дизайн исследования. Определены источники информации, единицы информации, а также объёмы и направление исследования, что отражено в таблицах 2.1 – 2.3. Определена программа исследований, включающая несколько этапов, выполнение которых осуществлялось с применением комплекса гигиенических, физико-химических, натурно-экспериментальных, клинико-лабораторных методов и методов статистической обработки, позволяющих решить поставленные задачи.

В третьей главе представлены результаты исследований ретроспективной оценки воздуха рабочей зоны на содержание основных химических веществ. Анализируя процесс получения винилхлорида и поливинилхлорида, показано, что проблема воздействия токсикантов на работников остаётся актуальной, а приоритетными загрязнителями воздушной производственной среды являются высокотоксичные – винилхлорид и 1,2-дихлорэтан, соединения 1 и 2 класса опасности. Отмечено, что результаты оценки химического фактора свидетельствуют о том, что, несмотря на значительное снижение среднегодовых концентраций веществ, работники испытывают интермиттирующее воздействие высоких уровней винилхлорида и 1,2-дихлорэтана при выполнении основных, ремонтных и профилактических работ. Установлены химические экспозиционные нагрузки, показатели вредности и опасности воздействия изученных хлорированных углеводородов на организм человека.

В четвертой и пятой главах собственных исследований, представляющих собой аналитическую экспериментальную часть диссертации по разработке комплекса высокочувствительных газохроматографических и хромато-масс-спектрометрических методов анализа винилхлорида и 1,2-дихлорэтана и их метаболитов (2-хлорэтанола (ХЭ), монохлоруксусной кислоты (МХУК) и тиодиуксусной кислоты (ТДУК)) в биологических матрицах (кровь, моча), построенную логически от выбора стратегии оптимальных условий пробоподготовки биологических объектов, включающих стадии дериватизации и жидкостно–жидкостной экстракции и микроэкстракции, анализа равновесной паровой фазы, отработки газохроматографических параметров и режимов, и заканчивая метрологическими исследованиями (разделы 4.1.5; 4.2.5; 5.1.5; 5.2.5). С целью определения рациональных параметров процесса пробоподготовки для определения ТДУК в моче были проведены исследования в соответствии с методом планирования эксперимента, позволяющим получить наиболее точное математическое описание процессов. Оптимизацию условий этерификации ТДУК осуществляли

с помощью математического планирования, варьируя температуру, время процесса, природу катализатора (BF_3 и H_2SO_4), что отражено в разделе диссертации 5.2.3. Представлены результаты поиска и изучения идентичности и стабильности возможного наряду с ТДУК продукта метаболизма винилхлорида в моче 2-гидроксиэтилмеркаптуровой кислоты показали, что трудности выделения в индивидуальном виде и способность быстро разлагаться в экспериментальных образцах с образованием сложных смесей продуктов, свидетельствуют о его нестабильности и невозможном использовании в качестве биомаркера экспозиции винилхлорида.

В результате исследования автором предложена логично выстроенная схема определения искомым анализом. К важнейшим результатам данных разделов можно отнести, что разработанные методы определения содержания хлоруглеводородов и их метаболитов в биосредах аттестованы в соответствии с ГОСТ Р 8.563-2009 и применимы для анализа реальных образцов проб.

Шестая глава, отражает результаты исследований содержания винилхлорида, 1,2-дихлорэтана и их метаболитов в биосредах у лабораторных животных и работников производства химического комплекса. Учитывая особенности биотрансформации винилхлорида и 1,2-дихлорэтана в организме с последовательным образованием метаболитов и их различный временной интервал длительности нахождения в организме и выведения с мочой, проведены экспериментальные исследования. Изучение количественного содержания винилхлорида, 1,2-дихлорэтан и 2-хлорэтанола в пробах крови не выявило значимых различий у работников химического комплекса, а также в зависимости от времени постконтактного периода, что указывает на быстрое превращение данных соединений в метаболиты. В результате исследований автором показано, что определение содержания тиодиксусной кислоты (ТДУК) в моче является наиболее аргументированным при изучении воздействия винилхлорида и его метаболитов (раздел 6.1., таблица 6.1., рисунки 6.1. – 6.5.). Выявленные наиболее высокие уровни тиодиксусной кислоты в моче у работников в процессе работы, перед началом следующей смены и в

период длительного межсменного отдыха через 24–48 часов после прекращения контакта с токсикантами, что может служить оптимальным временем для сбора проб мочи при проведении биомониторинга.

Определенный научный интерес представляют исследования автора, отражающие взаимосвязь между содержанием ключевого метаболита ТДУК в моче у работников с содержанием мономера винилхлорида в воздухе и с биохимическими показателями, отражающих состояние печени и липидного обмена, изложенные в **седьмой главе**. Одним из важнейших результатов исследования явилась выявленная высокая корреляционная зависимость от уровней воздействия токсикантов в производстве винилхлорида и поливинилхлорида, свидетельствующая о возможности использования данного показателя в качестве ключевого биомаркера экспозиции для оценки профессиональных рисков. Показано, что хроническое воздействие мономера винилхлорида приводит к нарушению липидного обмена, заключающегося в повышении концентрации общего холестерина во всех обследуемых группах, а также о влиянии хлорорганических соединений на маркеры повреждения печени, которые выявляются путём ассоциации между уровнями метаболита ТДУК и содержанием АЛТ в крови работников химического комплекса (раздел 7.2). В главе имеется раздел, посвященный обсуждению результатов исследования.

Заключение диссертационной работы представляет собой научное обобщение материалов исследования и позволяет сделать вывод о достижении автором поставленной цели, решении поставленных задач. Выводы, сформулированные автором, логично вытекают из полученных результатов, соответствуют задачам исследования. Автором представлена общая схема химико-аналитического определения винилхлорида, 1,2-дихлорэтана и их метаболитов в биологических матрицах и концептуальная модель биомониторинговых исследований в системе социально-гигиенического мониторинга медико-биологических исследований.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями п. 25 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», в нём отражено основное содержание диссертации, при этом сохранена структура и последовательность изложения материала. Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации, в нём отражено основное содержание диссертации, при этом сохранена структура и последовательность изложения материала.

Принципиальных замечаний при анализе квалификационной работы не возникло.

Оценивая в целом диссертационную работу положительно, в порядке дискуссии хотелось бы узнать мнение автора по следующим вопросам:

1. Как автор представляет себе использование полученных результатов исследования биопроб работников на содержание хлорорганических соединений и их метаболитов в практической работе врачебной комиссии по установлению связи заболевания с профессией или определению профпригодности с учетом относительно кратковременной кинетики этих токсикантов?

2. Какими могут быть показания для исследования биопроб работников на содержание хлорорганических соединений и их метаболитов в профилактической работе врача профпатолога или гигиениста труда?

Заключение

Диссертационная работа Журба О.М. на тему «Научно-методические основы биологического мониторинга хлорорганических соединений и их метаболитов у работников в производстве винилхлорида и поливинилхлорида», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.2.4. Медицина труда, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований достигнуто решение важной научной проблемы, имеющей существенное значение для медицины труда, – представлено научное обоснование методов определения хлорорганических токсикантов и их

