

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

заведующей лабораторией молекулярно-генетических и экспериментальных исследований, доктора биологических наук,
доцента Жуковой Анны Геннадьевны
на диссертацию Берёзы Ивана Андреевича

«Связь полиморфизмов генов, вовлеченных в окислительный стресс, с болезнями, характеризующимися повышенным кровяным давлением, у работников конвертерного цеха»

на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

3.2.4. Медицина труда, представленную к защите в диссертационный совет
24.1.176.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении
«Научно-исследовательский институт медицины труда
имени академика Н.Ф. Измерова»

Актуальность темы исследования

Чёрная металлургия представляет собой одну из важнейших отраслей промышленности, однако, трудовая деятельность в ней сопряжена с особыми условиями, представляющими угрозу для здоровья [Онищенко Г.Г., 2009; Masyagutova L.M. et al., 20022]. Данные, приведённые диссертантом в обзоре, свидетельствуют, что подавляющее большинство работников этой отрасли (до 72.5%) трудятся во вредных и опасных условиях, подвергаясь комплексному воздействию аэрозолей фиброгенного и канцерогенного действия, токсичных газов, шума, вибрации и неблагоприятного микроклимата.

Работа в отрасли чёрной металлургии сопряжена с вредными и(или) опасными условиями труда, в том числе из-за воздействия ксенобиотиков, содержащихся в воздухе рабочей зоны, которые способствуют ухудшению состояния здоровья рабочих [Газимова В.Г., 2024]. Повышенное образование свободных радикалов и последующий окислительный стресс – один из ключевых механизмов воздействия производственных ксенобиотиков на организм [Jomova K., Valko M., 2011]. Этот процесс оказывает деструктивное влияние на ткани, нарушая их функциональную целостность и, таким образом, создаёт благоприятные условия для развития различных патологических процессов [Touyz R.M. et al., 2020].

В норме активные формы кислорода через редокс-сигнальную систему участвуют в регуляции многих клеточных процессов [Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В., 2007]. Однако чрезмерный уровень свободных радикалов вызывает дисфункцию редокс-сигальной системы [Stephens J.W. et al., 2009] и как следствие к развитию воспаления, повреждения эндотелия и структурных изменений сосудов [Harrison D.G., 2013; Touyz R.M. et al., 2017; Masi S. et al., 2019]. Поэтому, в последнее время окислительный стресс рассматривают как центральное звено кардиоваскулярной токсичности металлургических ксенобиотиков [Stone V. et al., 2017; Touyz R.M. et al., 2020]. Так, в структуре причин смертности и заболеваемости взрослого населения, особенно в трудоспособном возрасте, ведущее место устойчиво занимают болезни системы кровообращения, в первую очередь артериальная гипертензия и другие болезни,

характеризующиеся повышенным кровяным давлением. Эпидемиологический рост этих заболеваний отмечается как в целом по России, так и в Уральском федеральном округе, где темпы прироста являются одними из самых высоких. При этом работники промышленных предприятий, в частности металлургии, составляют группу повышенного риска.

В защите организма от длительного воздействия вредных повреждающих факторов участвует система антиоксидантной защиты. Полиморфизмы в генах ферментов антиоксидантной защиты изменяют реакцию на окислительный стресс при многих производственно обусловленных заболеваниях [Кузьмина Л.П. с соавт., 2020; Alhobeira H.A. et al., 2020]. В связи с этим изучение полиморфизмов генов, связанных с окислительно-восстановительными реакциями, соответствует потребности в новых подходах в здравоохранении [Измеров Н.Ф., 2008], так как позволяет доклинически выявлять работников с повышенным риском производственно обусловленных заболеваний в сочетании с сердечно-сосудистой патологией, что открывает новые возможности для разработки мер первичной профилактики.

Таким образом, диссертационная работа И.А. Берёзы, посвящённая комплексному исследованию профессионального здоровья работников конвертерного цеха предприятия чёрной металлургии, выявлению ассоциации полиморфизмов генов ферментов антиоксидантной защиты с развитием болезней, характеризующихся повышенным кровяным давлением (БХПАБ) и формированию базы геномного профиля работников металлургических предприятий, является актуальной, своевременной и нацелена на достижение одной из приоритетных целей медицины труда – создание научной основы для персонализированной оценки риска здоровью.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне. Автором сформулированы цель и задачи исследования, соответствующие современным научным представлениям о профессионально обусловленных заболеваниях работников предприятий чёрной металлургии, роли окислительного стресса в развитии болезней, характеризующихся повышенным артериальным давлением.

Достоверность результатов обеспечивается:

- достаточным объёмом выборки, включавшей 203 работника конвертерного цеха металлургического комбината г. Нижний Тагил, и группу сравнения, состоящую из 151 работника административно-управленческих подразделений данного предприятия без стажа работы во вредных условиях труда;
- проведением сравнительного анализа результатов специальной оценки условий труда (СОУТ) и производственного контроля, выполненных на основных рабочих местах металлургического комбината. Для определения элементов, присутствующих в пробе осевших пылей на рабочих местах, применялся рентгенофлуоресцентный анализ;

- применением современных клинических исследований и методов молекулярно-генетического анализа;
- анализом взаимодействий однонуклеотидных полиморфизмов генов *SOD2* (*rs4880*), *CAT* (*rs1001179*, *rs7943316*), *GPX4* (*rs713041*) и *NOS3* (*rs1799983*) для выяснения генетических механизмов риска развития БХПАБ.

Статистическая обработка результатов выполнена с применением современных методов анализа данных с использованием пакета IBM SPSS Statistics и программы STATISTICA (StatSoft). Использованы следующие статистические методы: критерий Колмогорова-Смирнова; критерии Пирсона и Пирсона с поправкой на правдоподобие; расчёт отношения шансов (ОШ) с доверительными интервалами (95% ДИ) и уровнем значимости (p); непараметрические критерии Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса.

Положения, выносимые на защиту, логично вытекают из результатов собственных исследований автора. Выводы полностью соответствуют поставленным задачам и убедительно обоснованы.

Научная новизна исследования и полученных результатов. Научная новизна диссертационной работы не вызывает сомнений и заключается в комплексном, междисциплинарном подходе к решению поставленных задач.

Автором впервые на территории Урала проведено исследование ассоциации полиморфизмов генов, вовлеченных в окислительный стресс, с БХПАБ и уровнем артериального давления (АД) у работников чёрной металлургии, находящихся под воздействием вредных факторов производственной среды и трудового процесса. Берёзой И.А. установлено, что воздействие вредных факторов металлургического производства ассоциировано с более высокими значениями артериального давления у работников конвертерного цеха предприятия чёрной металлургии.

Впервые для Уральского региона выявлены ассоциации полиморфизмов генов антиоксидантной системы с риском развития БХПКД у работников чёрной металлургии. Показано, что полиморфизм *rs4880* гена *SOD2* является одной из причин повышения АД у работников конвертерного цеха, что подтверждает гипотезу о взаимодействии «генотип-среда». Установлено, что у носителей гомозиготного мутантного генотипа *T/T* гена *SOD2* (*rs4880*) риск БХПКД повышен в 2 раза, а уровни САД и ДАД статистически значимо выше. Эти данные могут быть использованы для проведения диагностических, профилактических и лечебных мероприятий.

Впервые показано, что одновременное нарушение нескольких этапов нейтрализации свободных радикалов может быть связано с ухудшением состояния сердечно-сосудистой системы работников чёрной металлургии, находящихся под длительным воздействием оксидантов. Генотипы *C/T+T/T* гена *CAT* (*rs1001179*) и нормальный генотип *C/C* гена *GPX4* (*rs713041*) усиливают негативные эффекты полиморфного генотипа *T/T* гена *SOD2*, в результате чего снижается способность как к преобразованию супероксидного радикала в H_2O_2 , так и к разложению H_2O_2 до нейтральных молекул.

Доказано, что определение полиморфизмов генов ферментов первой линии антиоксидантной защиты *SOD2* (*rs4880*), *CAT* (*rs1001179*, *rs7943316*) и *GPX4*

(*rs713041*) может использоваться для создания оптимальной диагностической панели генетических маркеров по выявлению группы риска возникновения развития БХПКД у работников конвертерного цеха предприятия чёрной металлургии.

Теоретическая значимость работы заключается в развитии нескольких областей. В профессиональной патологии она способствует переходу от феноменологического описания к изучению молекулярных механизмов развития профессионально обусловленных болезней системы кровообращения. В кардиологии исследование представляет модель для анализа экзогенных (производственных) триггеров эндотелиальной дисфункции и артериальной гипертензии. В области молекулярной эпидемиологии работа демонстрирует подход к поиску генов-кандидатов предрасположенности к мультифакториальной патологии в чётко очерченной профессиональной когорте, внося вклад в понимание взаимодействия «ген-среда».

Практическая значимость работы заключается в формировании базы данных «Геномный профиль работников предприятий чёрной и цветной металлургии Свердловской области» регистрационный №2023622858 от 18.08.2023 г.

Изученные полиморфизмы генов *SOD2* (*rs4880*), *CAT* (*rs1001179*) и *GPX4* (*rs713041*) могут быть использованы для создания оптимальной диагностической панели генетических маркеров по выявлению группы риска возникновения и развития БХПКД у работников конвертерного цеха предприятия чёрной металлургии.

По результатам работы разработаны «Методические рекомендации к прогнозированию изменений состояния здоровья населения под влиянием химических факторов и их коррекция на основе данных молекулярно-генетического мониторинга (определение полиморфизма генов)». Практическая значимость исследования подтверждается внедрением его результатов в научно-исследовательскую работу и образовательный процесс ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора.

Оценка содержания диссертационной работы

Диссертация выполнена в соответствии с общепринятой структурой научного исследования. Её объём составляет 160 страниц машинописного текста, который включает 21 таблицу и 12 рисунков.

Введение сформулировано логично и даёт цельное представление об актуальности диссертационного исследования. Чётко сформулированы цели и задачи работы, основные положения, выносимые на защиту. В конце раздела автор убедительно представляет данные о размерах личного участия в проведённом исследовании – планирование, организация, проведение исследований, анализ и изложение материала по всем разделам работы составляет не менее 85%.

Первая глава диссертации посвящена теоретическому анализу проблемы. В ней на основании обзора современной научной литературы убедительно обоснована ключевая роль окислительного стресса как одного из центральных патогенетических факторов развития сердечно-сосудистых заболеваний, в

частности болезней, характеризующихся повышенным кровяным давлением. Соискатель детально рассматривает современные концепции, такие как теория «разжигающих радикалов» («костра»), объясняющую каскадное усиление свободнорадикальных процессов в эндотелии, и теорию ферроптоза – железозависимой клеточной гибели, индуцируемой перекисным окислением липидов.

Логическим завершением теоретической части является обоснование выбора генов-кандидатов (*SOD2*, *NOS3*, *CAT*, *GPX4*), кодирующих ключевые ферменты антиоксидантной защиты первой линии, полиморфизмы которых могут модулировать индивидуальную устойчивость к окислительному стрессу, вызванному профессиональной экспозицией. Для каждого гена приведены данные о его роли в поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза, связи с патофизиологией гипертензии и наличии функционально значимых полиморфизмов, изученных в других популяциях. Отмечена как подтверждающая, так и противоречивая информация по некоторым полиморфизмам (например, *NOS3* rs1799983), что говорит о критическом и взвешенном подходе соискателя к анализу литературы. Обоснована и методическая платформа – использование ПЦР в реальном времени, отмеченная как доступная и эффективная для задач генетического скрининга.

В целом Берёза И.А. продемонстрировал глубокое понимание предметной области, системно проанализировав и синтезировав обширный массив данных из разнородных источников: от государственной статистики и отраслевых отчетов до фундаментальных работ в области биохимии свободнорадикальных процессов, молекулярной кардиологии и генетики. Теоретические построения, связывающие профессиональные вредности с окислительным стрессом, эндотелиальной дисфункцией и сердечно-сосудистыми заболеваниями, подкреплены многочисленными ссылками на авторитетные отечественные и зарубежные исследования (привлечено более 400 отечественных и зарубежных источников).

Во второй главе представлены материалы и методы исследования. Описана общая схема работы, включающая клинико-статистический и молекулярно-генетический блоки. Детально охарактеризованы группы наблюдения: основная группа (203 работника конвертерного цеха металлургического комбината, подвергающихся комплексному воздействию вредных факторов, в особенности аэрозолей железа) и группа сравнения (151 сотрудник административно-управленческого аппарата). Продемонстрирована сопоставимость групп по возрасту. Подробно изложены методы генотипирования пяти выбранных полиморфизмов (*SOD2* rs4880; *NOS3* rs1799983; *CAT* rs1001179 и rs7943316; *GPX4* rs713041) с помощью ПЦР в реальном времени, а также клинические методы оценки (измерение артериального давления, индекса массы тела) и статистические подходы к анализу данных.

Таким образом, исходя из представленных литературного обзора и описания материалов и методов исследования, можно заключить, что соискатель обладает необходимыми знаниями для обеспечения высокой методологической строгости исследования. Предложенный подход выглядит обоснованным для

получения достоверных данных, которые позволили автору сформулировать верифицируемые выводы и практические рекомендации.

В третьей и четвертой главах изложены собственные результаты исследования и их обсуждение. Установлено, что условия труда в конвертерном цехе связаны с более высокими уровнями систолического артериального давления. Центральным результатом работы является выявление ассоциаций генетических полиморфизмов с риском БХПКД и уровнем АД исключительно в основной группе, что подтверждает гипотезу о взаимодействии «генотип-среда». В частности, показано, что у носителей гомозиготного мутантного генотипа Т/Т гена *SOD2* (*rs4880*) риск БХПКД повышен в 2 раза, а уровни САД и ДАД статистически значимо выше. Обнаружено, что негативный эффект этого полиморфизма усиливается при наличии вариантов генотипов в генах *CAT* (С/Т+Т/Т) и *GPX4* (С/С), что указывает на кумулятивное влияние нарушений в разных звеньях антиоксидантной защиты. Кроме того, в основной группе выявлены ассоциации полиморфизма *GPX4* (*rs713041*) и его комбинаций с повышенным индексом массы тела.

В заключительной части на основе полученных данных и теоретических концепций предложена интегративная схема патогенеза, объясняющая, как избыток железа в сочетании со сниженной активностью ферментов антиоксидантной защиты (обусловленной полиморфизмами) может запускать каскад окислительного стресса, эндотелиальной дисфункции и в итоге способствовать развитию БХПКД у металлургов.

Выводы и практические рекомендации работы логично вытекают из результатов: предлагается использовать выявленные генетические маркеры для формирования панели оценки индивидуального риска и создания групп повышенного внимания при проведении профилактических мероприятий среди работников вредных производств.

В целом исследование характеризуется логичной структурой, последовательностью изложения материала и внутренней согласованностью всех разделов. Выводы и положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют цели и задачам исследования, логично вытекают из полученных результатов и подтверждаются полученными результатами.

Диссертация Берёзы И.А. представляет собой завершённое научное исследование, результаты которого имеют перспективы широкого практического применения при проведении профилактических мероприятий по сохранению профессионального здоровья у работников вредных производств. Диссертация и автореферат оформлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Диссертация и автореферат диссертации, Структура и правила оформления». Автореферат соответствует требованиям пункта 25 Положения о присуждении учёных степеней, сохраняет основное содержание диссертационной работы, структуру и последовательность изложения материала.

Оценка личного вклада автора

Берёзой И.А. проведён обзор и анализ литературных источников, нормативных документов по данной проблематике. Автором лично определены

цель и задачи, разработан дизайн работы, проведены лабораторные исследования и анализ полученных данных. На основании результатов получено Свидетельство РФ на базу данных, разработаны методические рекомендации.

Апробация, внедрение и публикации по теме работы

Материалы диссертации прошли апробацию в ходе научных конференций, в том числе с международным участием. По теме диссертационного исследования опубликовано 5 научных трудов, из которых 4 опубликованы в научных периодических изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации по специальности 3.2.4. Медицина труда, и индексируемых в международной системе цитирования Scopus.

По результатам работы разработаны «Методические рекомендации к прогнозированию изменений состояния здоровья населения под влиянием химических факторов и их коррекция на основе данных молекулярно-генетического мониторинга (определение полиморфизма генов)». В ходе проведения исследования зарегистрирована База данных «Геномный профиль работников предприятий черной и цветной металлургии Свердловской области».

Материалы работы обсуждены на встрече руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека с молодыми учеными Роспотребнадзора по теме «Перспективные направления научных исследований».

Диссертационная работа Берёзы И.А не вызывает принципиальных замечаний, однако хотелось бы уточнить у автора следующее - в литературном обзоре диссертации подробно описана теория «разжигающих радикалов» («костра») применительно к сердечно-сосудистому окислительному стрессу. Соискатель обоснованно переносит эту общебиологическую концепцию в область профессиональной медицины, рассматривая воздействие металлосодержащих аэрозолей (в первую очередь, соединений железа) как ключевой фактор, инициирующий каскад свободнорадикальных реакций. Почему для генетического анализа выбраны только полиморфизмы генов антиоксидантных ферментов первой линии защиты от активации свободнорадикальных процессов, а для изучения механизмов патогенеза кардиоваскулярной патологии выбран только ген NOS3?

Указанные замечания не снижают значимости полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку диссертационного исследования, но, возможно, могут быть учтены при планировании дальнейших исследований.

Заключение о соответствии диссертации и автореферата требованиям Положения о присуждении ученых степеней

Предложенная работа носит междисциплинарный характер, соответствует современным тенденциям развития биомедицинской науки и имеет чёткую социально-экономическую направленность, связанную с сохранением здоровья ключевой для экономики страны профессиональной группы.

Диссертационное исследование на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности: 3.2.4. Медицина труда (биологические науки): «Связь полиморфизмов генов, вовлеченных в окислительный стресс, с болезнями, характеризующимися повышенным кровяным давлением, у работников конвертерного цеха» – полностью соответствует требованиям к кандидатским диссертациям пп. 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановлений Правительства РФ от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.10.2023 г. № 1786, от 25.01.2024 г. № 62, от 16.10.2024 г. № 1382), а её автор Иван Андреевич Берёза заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 3.2.4. Медицина труда.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией молекулярно-генетических
и экспериментальных исследований
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательского института комплексных проблем
гигиены и профессиональных заболеваний»
доктор биологических наук, доцент  А.Г. Жукова

Подпись доктора биологических наук, доцента Жуковой А.Г. заверяю.
Ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательского института комплексных проблем
гигиены и профессиональных заболеваний»
кандидат биологических наук  Т.Г. Корсакова
«20» августа 2026 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт комплексных проблем
гигиены и профессиональных заболеваний»
654041 Кемеровская область, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, 23
Тел/факс (8-3843) 796-669; тел. (8-3843) 796-979
E-mail: niikpgpz@mail.ru