

ВІДГУК

офіційного опонента доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника Пихтєєвої Олени Геракліівни на дисертаційну роботу Андрусішиної Ірини Миколаївни на тему: «ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА ВПЛИВУ МЕТАЛІВ НА ЕНДОКРИННУ СИСТЕМУ ЯК ТЕХНОГЕННИХ ФАКТОРІВ МАЛОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ», подану до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.02.01 – гігієна та професійна патологія

Актуальність теми дисертації.

Мінеральний обмін людини, баланс між надходженням та виведенням хімічних елементів, забезпечення населення фізіологічно-достатнім рівнем основних есенціальних мікроелементів (МЕ) та визначання меж токсичної дії хімічних елементів як факторів малої інтенсивності є надзвичайно актуальним і активно вивчається в світі, в тому числі в нашій країні. Надлишок або нестача певних металів порушує збалансованість метаболічних процесів у організмі, що викликає різні зміни ендокринної, імунної, репродуктивної та інших систем, може призвести до скорочення тривалості життя. У величезній кількості досліджень встановлено, що надмірне або недостатнє надходження металів до організму людини може бути фактором ризику порушень функцій нирок, печінки, нервової та імунної систем і вести до підвищення рівня захворюваності населення. Достовірно доведено: дефіцит МЕ веде до зниження функціональних можливостей організму, що відбивається на захворюваності та продуктивності праці. Значно менше відомо про вплив МЕ і токсичних елементів на ендокринну функцію. В літературі існують лише поодинокі відомості щодо проявлення типовими токсичними елементами (Cd, Pb, U, As, Hg) функцій міметиків стероїдних гормонів, дія інших елементів на ендокринну систему в доступній літературі не висвітлена. На сьогодні практично не відпрацьовані методичні підходи щодо організації моніторингу елементного статусу людини, нормування вмісту металів у біологічних середовищах, визначення максимально припустимих та фізіологічних рівнів, питання донозологічної діагностики змін мікроелементів у організмі людини, здатних впливати на розвиток патологічних процесів. Все це не дозволяє проводити коректну оцінку ризику для здоров'я та заходи профілактики при надмірній експозиції токсичними елементами та/або недостатньому надходженні ЕМ. Наукові дослідження в цьому напрямку в основному носять фрагментарний характер. Саме тому актуальність комплексного дослідження впливу різних форм хімічних елементів на рівні екологічних та промислових концентрації на ендокринну систему людей, моделювання цього впливу на лабораторних тваринах та експериментах *in vitro* не викликає сумнівів.

Дисертаційна робота виконана у межах п'яти науково-дослідних робіт лабораторії аналітичної хімії та моніторингу токсичних речовин ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І.Кундієва НАМН»: «Неінвазивні тести експозиції в удосконаленні біомоніторингу пріоритетних фосфор- та хлорорганічних пестицидів, сполук важких металів –свинцю,

кадмію, марганцю» (№ держреєстрації 0110U000304), «Удосконалення методичних підходів контролю безпеки застосування нових пестицидів та інших хімічних речовин сільськогосподарського призначення» (№ держреєстрації 0113U001442), науково-дослідної роботи лабораторії промислової токсикології «Наукове обґрунтування принципів, методів і показників експериментальної оцінки токсичності наночастинок і наноматеріалів (на прикладі важких металів)» (№ держреєстрації 0113U001447); лабораторії гігієни праці у зварювальному виробництві та токсикології зварювальних аерозолів «Наукові основи гігієнічного регламентування наноматеріалів у виробничому середовищі» (№ держреєстрації 011U000300) та «Встановлення особливостей біологічної дії нанорозмірних фракцій промислових аерозолів» (№ держреєстрації 0116U000498), що додатково підкреслює її актуальність, наукову та практичну значимість. Ірина Миколаївна була співвиконавицею цих НДР і безпосередньо вивчала вміст важких металів і есенційних мікроелементів у об'єктах довкілля, проводила оцінку рівня добового аліментарного надходження металів до організму людини на прикладі мешканців м. Києва та Київської області, вивчала мікроелементний статус дорослого працездатного населення деяких регіонів України, оцінювала мікроелементний баланс осіб з ендокринною патологією та працівників виробництв, визначала характер і ступінь впливу екологічних чинників на вміст мікроелементів у організмі людини, досліджувала особливості ізольованої дії різних форм металів на токсикокінетику в організмі тварин та ендокринну систему в умовах лабораторного експерименту, розраховувала оптимальні рівні вмісту металів у біологічних середовищах людини, визначала ступінь адаптованості людини до дії металів і тварин у експерименті, проводила узагальнення отриманих результатів, наукових доробок гігієнічної школи України та даних літератури задля оцінки ризиків розвитку екологічно зумовлених розладів ендокринної системи у населення та працюючих у шкідливих умовах.

Авторкою була в цілому досягнена мета даної роботи: виявлення особливостей дії металів як факторів малої інтенсивності на ендокринну систему та обґрунтування оптимальних рівнів їхнього вмісту в біологічних середовищах, удосконалення методичних підходів до патогенезу, діагностики та оцінки ризику.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації суттєво відрізняється у різних розділах. Він є достатньо високим, забезпечується поетапним аналізом даних літератури, застосуванням комплексу сучасних, інформативних, чутливих, адекватних меті та завданням дослідження методів (санітарно-гігієнічних – оцінка вмісту хімічних речовин в об'єктах довкілля; клінічних – вивчення навантаження організму населення та працюючих ВМ та МЕ; соціологічних – анкетування населення для формування однорідного контингенту дослідження; фізико-хімічних (спектрометрія атомно-абсорбційна та атомно-емісійна з індуктивно-зв'язаною плазмою) - визначення вмісту хімічних елементів у біосубстратах людини та експериментальних тварин, мас-спектрометричних (оцінка взаємозв'язків між металами та гормоноподібними пептидами, фотон-кореляційна спектрометрія (розміри частинок та

молекул); морфологічних (світлова та електронна мікроскопія ендокринних органів), цитологічних (вивчення цитотоксичності металів (на ендотеліоцитах та гаметах), біохімічних (визначання вмісту білкових гормонів – ТТГ, ТГ, вільного Т4 та С-пептиду, металоферментів та металотранспортних білків). Однак висновки, отримані при математичному моделюванні, оцінці ступеню адаптації, оцінки ризику викликають сумніви із-за недостатньої кількості обстежених осіб з ендокринними патологіями, їхньої неоднорідності (вік, стать, умови проживання, термін хвороби, умови харчування тощо), що дає можливість лише обережно говорити про тенденції.

Отримані І.М.Андрусишиною багаточисленні дані щодо вмісту мікроелементів в природних та питних водах (2600 вимірювань), продуктах харчування (5412 вимірювань), ґрунті (1600 вимірювань), повітрі робочої зони при різних виробничих процесах та атмосферному повітрі (5412 вимірювань), а також в волоссі, крові, сечі, слині людей різного віку, стажу та роду занять (11190 вимірювань) мають самостійну науково-практичну цінність. Крім того проведена велика експериментальна робота на лабораторних щурах. Навіть тільки перерахування проведених досліджень вражає: оцінка вмісту та міграції ВМ у системі «кров-ендокринна система» (1402 дослідження), токсикокінетика металів (1402 дослідження), морфологічні дослідження цільної крові, щитоподібної залози (ЩЗ) та підшлункової залози (ПЗ) (300 досліджень), визначення біохімічних показників стану ЩЗ та ПЗ за умов дії металів (780 досліджень). Робота з тваринами (використано 58 самиць та 96 самців щурів лінії Wistar) проводилась у відповідності з положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.), Директиви Ради Європи 2010/63/EU, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», що підтверджено висновком Комісії з біоетики ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І.Кундієва НАМН» (протокол № 2 від 05.03.2018 р.).

Слід відмітити, що методично-вірний підхід до вирішення поставлених експериментальних задач забезпечили достовірність та репрезентативність отриманих автором наукових результатів.

Кількість та якість проведених досліджень дозволяє вирішити більшість поставлених завдань. Такий великий обсяг робіт вимагав багато часу, тому перші публікації І.М.Андрусишиної по темі дисертації відносяться ще до початку 2000-х років. Текст дисертації базується і на даних, наведених в первинній документації. Більшість наукових положень та висновків, що сформульовані в дисертації, базуються на результатах, які були отримані у процесі виконання роботи, достатньо аргументовані, відповідають поставленій меті та завданням дослідження, мають теоретичне та практичне значення. Тому **в цілому** обґрунтованість і достовірність наукових положень оцінюються позитивно.

Новизна досліджень і одержаних результатів не викликають сумнівів, оскільки на сьогодні не встановлений достовірно вплив металів на ендокринну систему при дії низьких «фонових»

доз і в світі такі роботи не опубліковані. Автором розширено методичні підходи щодо комплексної еколого-гігієнічної оцінки впливу металів з об'єктів довкілля на формування ендокринної патології; вперше в Україні застосовано новий методичний підхід з визначення концентрацій металів у повітрі робочої зони працюючих (зокрема, зварювальників) у формі їхніх мікрочастинок (МК) і НЧ; визначено регіональні сумарні добові дози металів (Mn, Cr, Al, Ag та інших) з урахуванням відсотка внеску їхнього біологічного засвоєння, показано долю вкладу кожного елемента з об'єктів довкілля (повітря, вода, продукти харчування); встановлено особливості навантаження організму людини металами залежно від віку, здоров'я та тривалості професійного контакту з металами та їхнього внеску у формування ендокринних розладів; запропоновано маркери експозиції (метали, як токсичні, так і есенційні); вперше з'ясовано особливості патогенетичних механізмів ендокринних порушень в умовах лабораторного експерименту на моделях за умов дії металів залежно від їхніх дисперсних розмірів і фізико-хімічних властивостей і встановлено особливості молекулярно-біохімічних механізмів розвитку порушень ендокринної системи залежно від фізико-хімічних властивостей сполук металів; вперше застосовано підхід до оцінки адаптації організму за показниками балансу МЕ як проміжної ланки адаптаційного процесу ендокринної системи в експериментах на тваринах та за умов екологічно обумовленої та професійної експозиції в людини; обґрунтовано оптимальні рівні вмісту металів у біологічних середовищах людини та проведено оцінку екологічно обумовленого ризику ендокринних розладів;

Теоретичне значення одержаних результатів дослідження полягає в суттєвому розширенні теоретичних положень профілактичної медицини щодо встановлення особливостей формування навантаження організму металами в зв'язку з зовнішнім техногенним забрудненням; обґрунтуванні основних маркерів експозиції та екологічно зумовлених маркерів впливу для виявлення ранніх проявів порушень адаптації ендокринної системи людини; доповненні існуючих даних з патогенетичних механізмів розвитку порушень ендокринної системи за впливу ВМ та їхніх фізико-хімічних форм як факторів малої інтенсивності; встановленні особливостей формування оптимальних рівнів, їхнього вмісту в біологічних середовищах людини та закономірностей розвитку мікроелементозів і екологічно детермінованої ендокринної патології в населення; запропонуванні нового підходу до прогнозування змін показників ендокринного здоров'я населення.

Практичне значення одержаних результатів полягає у розширенні методичних підходів щодо способів діагностики та прогнозування порушень мікроелементного статусу, оцінки потенціалу ендокринної системи населення та працюючих з використанням комплексу інвазивних і неінвазивних методик (багатоелементний аналіз волосся, нігтів, сироватки крові, цільної крові, сечі, слини) та впровадженні в клінічну і санітарно-гігієнічну практику метод біологічного моніторингу металів. Це підтверджується документами впровадження. За результатами досліджень видано методичні рекомендації «Атомно-абсорбційні методи визначення макро- та мікроелементів у біологічних середовищах при порушенні їх обміну в

організмі людини» (МР, 2010) та «Оцінка порушень мінерального обміну у професійних контингентів за допомогою методу атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою» (МР, 2014), а також «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі» (МР, 2016), інформаційний лист № 0480-07 «Марганець у лейкоцитах – біологічний маркер експозиції», інформаційний лист № 230-2013 «Визначення вмісту макро- та мікроелементів у слині як експрес-тест біологічного моніторингу експозиції важкими металами», деклараційний патент на корисну модель «Спосіб визначення наночастинок у повітрі робочої зони» (Пат. № 72951 UA; опубл. 10.09.2012) та патент на корисну модель «Спосіб одержання наночастинок оксиду срібла з антимікробними властивостями» (Пат. № 95555 UA; опубл. 25.12.2014), довідка про регламент на марганець (2014). Результати дисертаційної роботи впроваджені в роботу: ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О. С. Коломійченка НАМН України» (акт впровадження від 20.10.2015), Центру біоелементології в ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (акт впровадження від 26.10.2015), ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (акт впровадження від 30.11.2015), ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (акт впровадження від 16.09.2015), ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України» (акт впровадження від 30.09.2015), ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту» (акти впровадження від 25.12.2010, від 20.09.2015 та від 10.02.2017), Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького в «Інститут клінічної патології» (акти впровадження від 23.02.2011 та від 13.10.2015), ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л. І. Медведя МОЗ України» (акт впровадження від 22.01.2008), Рівненської обласної науково-медичної бібліотеки (акт впровадження від 20.10.2015), Сумський державний університет (акт впровадження від 02.02.2011), ДП «Український науково-дослідний інститут промислової медицини (акт впровадження від 15.03.2011) та НТТУ «КПІ імені Ігоря Сікорського» хіміко-технологічного факультету (акт впровадження від 12.01.2017). Акти впровадження наведені в додатку Д.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях та у авторефераті підтверджується їх співставленням з текстом дисертації, кількісними та якісними характеристиками опублікованих 70 наукових праць, які відображають зміст проведеного дослідження, у тому числі: 38 статей (з них одноосібних 12) у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 26 робіт у журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз; 9 статей – у періодичних фахових виданнях інших держав, у тому числі наукометричних – 5; матеріали дисертації внесено до розділів 7 монографій, опубліковано у 30 тезах та матеріалах з'їздів, пленумів, конгресів, науково-практичних конференцій, 2 деклараційних патентах України на корисні моделі, 3 інформаційних листах, 3 методичних рекомендаціях. Опубліковані праці та автореферат повністю відображають наукові положення, що викладені в дисертації та ідентичні з текстом дисертації за змістовними атрибутами.

Структура і зміст дисертації. Робота побудована за традиційною класичною схемою, складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, 6 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел та 6 додатків. Дисертаційна робота викладена державною мовою на 384 сторінках друкованого тексту, її основний текст займає 218 сторінок. Дисертація ілюстрована 73 таблицями, 59 рисунками.

«Анотація» написана українською та англійською мовами згідно з встановленою формою для дисертаційних робіт. Містить основні результати досліджень, наукову новизну, практичну значимість та список публікацій здобувача.

«Вступ» відповідає вимогам діючої форми і надає загальне уявлення про актуальність проблеми комплексної гігієнічної та екологічної оцінки особливостей дії металів на ендокринну систему працюючих та населення, сучасні підходи щодо вивчення процесів адаптації організму на молекулярному, клітинному та системному рівнях та обґрунтування оптимальних рівнів вмісту металів (Ag, Al, Cr, Mn) у біологічних середовищах, удосконалення методичних підходів до діагностики ендокринних патологій та оцінки ризику. Обґрунтовано необхідність проведення даного дослідження, чітко сформульовано мету і основні завдання, а також вказана наукова новизна, практичне значення тощо.

Розділ 1. *Еколого-гігієнічна оцінка забруднення довкілля металами як фактор ризику дисфункції ендокринної системи населення* (аналітичний огляд літератури) складається з п'яти підрозділів, які відображають сучасний стан проблеми норми та адаптації при дії хімічних елементів, взаємозв'язок елементного гомеостазу та ендокринної системи, аналізує сучасні напрямки досліджень впливу хімічних елементів на ендокринну систему, обґрунтовує сфери застосування та актуальність вибору металів. Аналітичний огляд літератури демонструє широку ерудицію автора, знання сучасного стану проблеми мікроелементозів і металотоксикозів в нашій країні і за кордоном.

Розділ 2 «Матеріали та методи досліджень» показує концептуальний підхід до оцінки факторів ризику для ендокринної системи, формування оптимальних рівнів вмісту металів у біологічних середовищах людини та адаптації ендокринної системи до їхньої дії, який передбачав застосування комплексу екологічних, гігієнічних, клініко-лабораторних, експериментальних і статистичних методів дослідження за окремими взаємозалежними блоками: 1 – блок еколого-гігієнічних досліджень, 2 – блок оцінки мікроелементного балансу в біологічних середовищах різних груп населення (мешканців окремих регіонів, хворих з ендокринними патологіями та працюючих з металами), 3 – блок експериментальних досліджень токсикокінетики металів (Ag, Al, Cr, Mn) та біохімічних механізмів ендокринної дисфункції за умов різних шляхів їх надходження, 4 – блок наукового обґрунтування, розробки, впровадження допустимих регіональних рівнів вмісту металів та оцінка ризиків. Детальне описання методів відбору проб, проведення елементного аналізу різними методами,

показує високий професіоналізм дослідника в галузі сучасної медичної хімії елементів. До розділу, тем не менш, є зауваження до розрахункових формул 2.3. 2.5 в яких має місце плутанина з одиницями виміру, що спотворює результати розрахунків.

В експериментах на тваринах не дуже вдало обґрунтовано проведення експериментів з інтраперітонеальним способом введення, як такого «що в деякій мірі відображає аліментарний шлях введення» [С. 96]. Безумовно, це не так. Відсутність контакту наночастинок та комплексів ПВП-метал з сильноокислим середовищем шлунку (в якому, до речі, сполуки Ag перетворюються у нерозчинний AgCl, а наночастишки можуть підлягати деструкції), відсутність проходження через кишечник, де відбувається основне всмоктування металів, які потрапляють з водою та їжею, не дають можливості оцінювати цей метод як подібний аліментарному. Такий метод введення надзвичайно цікавий як раз за рахунок вищенаведених особливостей і справедливо використаний для порівняння з аліментарним шляхом.

Безумовною перевагою був застосований у роботі комплексний підхід з використанням морфологічних, цитологічних і біохімічних методів дослідження, які проведені за участі співробітника лабораторії медико-біологічних критеріїв с.н.с., к.м.н. М. М. Діденко ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН» та н.с. відділу ендокринології репродукції і адаптації Л. І. Полякової ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовиним. В. П. Комісаренка НАМН». Гормони визначали на базі МЛ «ДІЛА» згідно з договором про співпрацю. Розподіл НЧ за розмірами в колоїдній системі визначали методом фотонкореляційної спектроскопії на лазерному кореляційному спектрометрі Zeta Sizer-3 (Malvern, Великобританія) за участі завідувача лабораторії спектральних методів дослідження к.ф. н. В. І. Горчєвого Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України. Мас-спектри інкубованих з металами пептидів були отримані методом MALDI-TOF на приладі Autoflex II (Bruker) на базі лабораторії Інституту хімії поверхні ім. О. О. Чуйка с.н.с., к.б.н. Т. Ю. Громовим. Вивчення *in vitro* токсичної дії сполук металів на клітини карциноми та статевих гамет проводили за участі співробітників лабораторії зварювальних аерозолів (н.с. В. А. Мовчан) та промислової токсикології (н.с. М. С. Марченко) ДУ «Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН». Залучення широкого кола фахівців для проведення високоспеціалізованих досліджень з використанням найсучаснішої апаратури характеризує авторку як обізнаного і цілеспрямованого дослідника, який вміє ставити завдання та знаходити шляхи для їх вирішення.

В цілому можна зробити висновок, що І.М.Андрусина продемонструвала добре володіння складними хіміко-аналітичними методами визначення металів в різних природних об'єктах, а також довела розуміння клініко-діагностичних, біохімічних, морфологічних методів, вміння статистично оброблювати та узагальнювати одержану інформацію, що є необхідною умовою доказового наукового дослідження.

Розділ 3. У третьому розділі описана безпрецедентна робота з визначення вмісту широкого кола хімічних елементів в усіх можливих об'єктах довкілля: повітрі (атмосферному, житлових приміщень, робочої зони при різних виробничих процесах), воді (природній, питній, водопровідній, доочищеній бутильованій тощо), снігу, ґрунтах в різних районах міста, а також у харчових продуктах.

У повітрі робочої зони зварників показано наявність наночасток металів, які раніше не враховувались при нормативно існуючих методах відбору проб (на фільтр), що обумовлює значний ризик для працюючих. Це ставить на порядок денний розробку питань щодо гігієнічного регламентування вмісту нанорозмірних речовин у повітрі робочої зони.

Ще одним важливим висновком з проведених досліджень є встановлення дефіциту есенціальних елементів Zn та Cu – на 10,4-84,4 % від їхніх біологічних норм у харчових продуктах, що зумовлює потенційну небезпеку розвитку Zn- та Cu-дефіцитних станів у населення.

Дані спостережень за забрудненням довкілля дозволяють оцінити якість об'єктів оточуючого середовища та можуть бути рекомендовані для включення в систему екологічного та гігієнічного моніторингу.

Розділ ілюстрований 21 таблицею, ще ряд таблиць з важливими показниками був винесений в додатки, щоб не перевантажувати основний текст дисертації. Все це свідчить про багаторічні дослідження, проведені авторкою протягом щонайменше 20 останніх років.

Розділ 4 присвячений еколого-гігієнічній оцінці вмісту металів у біологічних середовищах працюючих та населення.

В *підрозділі 4.1.* описані вікові та регіональні особливості вмісту металів у біологічних середовищах людини за умов фонові експозиції. Авторкою отримані цікаві дані щодо вмісту хімічних елементів в різних біосередовищах людей різного віку. В таблицях 4.1.1-4.1.4 представлені дані вибіркового дослідження (максимум 35 осіб для старшої вікової групи) та не наведений стан їх здоров'я (практично здорові, без соматичної патології тощо), що не дає можливості оцінити наскільки можна узагальнювати отримані дані на популяцію в цілому щодо вікових особливостей обміну мікроелементів. Крім того, бажано б було навести хоча б максимальні та мінімальні значення в кожній віковій групі. Порівняння результатів вимірювань з групою дітей до 14 років є некоректним, тому що саме в цьому віці відбувається активний ріст і обмін мікроелементів суттєво відрізняється від такого у дорослих. Наприклад, достовірно підвищений, у порівнянні з дітьми, вміст Ni в слині та сечі осіб старше 50 років може бути зумовлений наявністю зубних коронок та протезів, а не особливостями накопичення та виведення. Крім того, концентрація мікроелементів в слині є надто динамічним показником і залежить від умов відбору проб, часу після вживання їжі, особливостей гігієни ротової порожнини, концентрації Ca, Mg в слині мають певний добовий ритм, тощо.

Отримані результати вимірювань є надзвичайно цікавими та корисними, а наведені кількісні показники свідчать про високу якість проведених хіміко-аналітичних вимірювань.

В *підрозділі 4.2.* проведена оцінка особливостей змін вмісту мікроелементів у біологічних середовищах осіб з патологією ендокринної системи. Вірогідно, невелика кількість обстежених (Табл. 2.4.: патологія ЩЗ 14 осіб, патологія ПЗ 17 осіб, алопеція з порушенням функції ЩЗ 13 осіб) дозволяє коректно робити висновок лише про тенденції в зміні МаЕ та МЕ у осіб з ендокринними патологіями. Це не ставить під сумнів цінність і важливість визначання мікроелементного статусу конкретних хворих з ендокринною патологією, особливо хворих на ЦД, які вимушені вживати дієтичне харчування протягом тривалого часу.

В *підрозділі 4.3* проведена оцінка особливостей мікроелементного балансу у біологічних середовищах осіб з історією професійного контакту з хімічними елементами. На основі елементного аналізу великої кількості біологічних субстратів (кров, сироватка крові, волоси, нігті, сеча, слина) у різних контингентів працюючих, авторка доводить, що своєчасне виявлення осіб з відхиленням в забезпеченні МаЕ і МЕ за результатами вмісту в різних біосередовищах дозволить оцінити стан передпатології й виявити групи ризику захворювань, які супроводжуються порушенням мінерального обміну, що може бути використано як додатковий маркер оцінки несприятливого впливу ВМ на виробництві.

На підставі проведених досліджень І.М.Андрусишина робить ряд цінних висновків, які не визивають сумніву: вміст металів в одному середовищі не завжди адекватно відображає характер їхнього обміну в організмі людини. З метою підвищення ефективності оцінки розвитку захворювань, у тому числі, ендокринної патології, рекомендовано застосовувати одночасне визначення рівнів МаЕ і МЕ у декількох біологічних середовищах. Прогнозування ступеня тяжкості та перебігу патологічного процесу, як наслідок порушення елементного гомеостазу, можливе при встановленні динамічних кількісних параметрів співвідношень елементів, близьких за хімічними властивостями в інвазивних та неінвазивних діагностичних біосубстратах, їх співставленні з нормальними рівнями співвідношень. В той же час рекомендація застосовувати слину в якості діагностичного субстрату, який адекватно відображає порушення мінерального обміну (особливо по мінорним елементам), викликає сумнів та потребує перед використанням стандартизації методики відбору проб.

В *Розділі 5* наведені результати експериментальних досліджень впливу металів на ендокринну систему. Токсикологічну оцінку впливу малих концентрацій солей Ag, Al, Cr, Mn та їх наночастинок на організм самиць і самців щурів оцінювали за комплексом морфологічних, гістологічних, біохімічних і фізико-хімічних показників, що дозволило встановити патологічні особливості їх ізольованої дії на ендокринну систему, а також виявити залежність від використаної сполуки металу. В *підрозділах 5.1-5.2* проведена оцінка показників токсикокінетики металів (Ag, Al, Cr, Mn) в організмі щурів при моделюванні

підгострого отруєння при інтраперитонеальному введенні нітратів та НЧ сполук металів в малих дозах (Ag 0,5 мг/кг маси тіла (1/220 LD₅₀), Al 0,5 мг/кг (1/560 LD₅₀), Cr 0,5 мг/кг (1/60 LD₅₀), для Mn 0,5 мг/кг (1/112 LD₅₀) впродовж 30 введень та у відновний період (через 30 днів після останнього введення), та пероральної дії сполук металів. Особливо важливо, що в цьому випадку вивчали дію колоїдних розчинів солей та відповідних колоїдних розчинів наночастинок в однаковій дозі по металу 0,5 мг/кг та (для срібла 0,05 мг/кг) маси тіла (14 введень). Експеримент грамотно спланований, так в розчин солей додавали стабілізатор ПВП, який технологічно необхідний для стабілізації наночастинок, але може спричинити самостійну дію. На підставі проведених досліджень авторка доводить більше накопичення у внутрішніх органах, в т.ч. ендокринних, саме металів, які були введені у вигляді наночастинок. Це, безумовно, новий, важний і надзвичайно цікавий матеріал.

В *підрозділах 5.3-5.4* наведені результати вивчення зміни балансу макро- та мікроелементів у цільній крові та ендокринних органах за умов інтраперитонеального та перорального введення сполук металів. Було вивчено зміни концентрацій широкого кола елементів (Al, Ag, I, Ca, Cu, Cr, Fe, Mg, Mn, Mo, K, P, Se, Zn). З аналізу величезного масиву інформації авторка робить справедливий висновок, що надмірне надходження будь якого елемента в той чи іншій мірі впливає на обмін елементів як токсичних, так і есенційних. Інший висновок є менш очевидним. «Накопичення металів, що вивчались, у тканині ЩЗ свідчить, з одного боку, про їхню струмогенну дію на ЩЗ та стрес-реакцію, з іншого боку, - для ПЗ». Висновок про підвищену струмогенну дію на підставі мікроелементного аналізу виглядає недостатньо доведеним. Чи зростає розмір або маса ЩЗ у проведених дослідженнях? Якщо так, то це було б бажано відобразити в тексті.

За умов перорального введення сполук металів отримані ще більш цікаві результати за рахунок можливості співставити дію колоїдних розчинів солей та наночастинок, яка виявилась достатньо суттєвою. Отримані дані підтверджують існуючі уявлення про більш високу токсичність металів у формі НЧ навіть тих речовин, які за дії розчинів є відносно біологічно інертними (як це є характерним для Al). Авторка робить справедливий висновок, що механізм токсичності металів в залежності від хімічної форми є різним.

В *підрозділі 5.5* представлені данні щодо біохімічних показників за умов різного введення сполук металів. Досліджений широкий спектр біохімічних показників в сироватці крові (альбумін, металотіонеїн, глюкоза, церулоплазмін, С-пептид), АТФ еритроцитів, йод ЩЗ, та гормони Т4, ТТГ. В підрозділі наведено 5 таблиць, в яких можна побачити зміни цих показників при різних типах введення металів. Підсумовуючи отримані результати біохімічних досліджень, І.М.Андрусишина доходить висновку, що вплив на ендокринну систему залежить від сполук металів, тривалості експозиції, характеру введення та дози. Найбільш руйнуючу дію чинили AgNO₃, Cr(NO₃)₃ та Mn(NO₃)₂ та НЧ Ag₂O та НЧ Cr-Cr.

В *підрозділі 5.6* описані структурно-морфологічні показники ендокринної системи експериментальних тварин в умовах підгострого інтраперитонеального та перорального введення Mn, Cr, Al, Ag. Розділ надзвичайно добре ілюстровано мікрофотографіями ЩЗ та ПЗ при різних типах забарвлення: гематоксилін-еозин та за Гоморі-Слінченко. Наведено повне і детальне описання препаратів, яке дає змогу побачити відмінності при введенні різних сполук.

Підрозділ 5.7 присвячений аналізу результатів моделювання *in vitro* впливу наночастинок Mn, Cr, Al, Ag на статеві клітини бика та клітини карциноми кишечника людини. Авторкою проведена оцінка цитотоксичності розчинів $AgNO_3$, $Al(NO_3)_3$, $Cr(NO_3)_3$, $Mn(NO_3)_2$ та НЧ Ag_2O , Al_2O_3 , Cr-Ctr і Mn-Ctr на суспензії культури рухомих клітин сперми бика в розчині полівінілпіролідону (1 % розчин) і вихідній концентрації металів у розчині 4,67-7,49 мг/л. Проведені дослідження показали різний характер впливу сполук металів у формі колоїдних розчинів нітратів та НЧ на культуру клітин. Так високу цитотоксичність показали НЧ Ag_2O , Cr-Ctr і Mn-Ctr. Токсичність *in vitro* Mn та Cr залежить від концентрації металу, його форми і типу клітин.

В *підрозділі 5.8* наведені надзвичайно цікаві результати моделювання *in vitro* взаємодії НЧ Mn, Cr, Al, Ag з пептидними гормонами та білками залежно від форми металів. Для цього запропоновано схему молекулярного Crash-test, в якому за допомогою мас-спектрометричного методу MALDI-ToF оцінювали стан молекул протеїнів після їхнього контакту з НЧ металів у розчині. Це сучасне, високотехнологічне дослідження, яке, безумовно, прикрасило дисертаційну роботу.

Розділ 6 присвячений дослідженню адаптаційних реакцій ендокринної системи за різних умов впливу металів. Характеристику клітинних реакцій специфічного і неспецифічного захисту організму проводили за індексами співвідношення популяцій лейкоцитів у периферичній крові піддослідних щурів за умов впливу сполук металів з різними їх фізико-хімічними властивостями. Пригортає до себе увагу відмінності в лейкоцитарній формулі у контрольних щурів (табл. 6.1 - 6.3). Різниця в показниках між контрольними тваринами в різних дослідах того ж порядку, що й між контрольними та піддослідними тваринами в межах одного досліду.

На основі проведеної математичної обробки результатів Ірина Миколаївна вводить показник ступінь адаптованості *A*. З тексту дисертації не зрозуміло, який його фізичний, біохімічний або фізіологічний сенс.

Авторкою, безумовно, проведена велика робота, складні розрахунки, визначення кореляцій тощо. Але не викликає сумніву лише останній висновок розділу «Негативний вплив ВМ на організм обумовлений комбінованою дією складових оточуючого середовища і носить різноспрямований характер. Останнє може проявлятися як напруженою регуляційно-адаптаційних систем, так і клінічними проявами патологічних змін окремих органів і систем».

В розділі 7 Ірина Миколаївна зробила спробу розробити методику оцінки ризиків розвитку екологічно та професійно обумовленої патології ендокринної системи. Проведена велика складна робота, але не вказано, які розміри вибірок використані для обчислення коефіцієнтів кореляції в табл. 7.1, тому що для того, щоб робити обґрунтовані висновки та проводити моделювання, необхідні результати обстеження великої кількості людей. На рис. 7.1-7.6 не позначені одиниці вимірювання показників, тому інформація важка для розуміння. При розрахунку індексу небезпеки HQ (формула 2.7), не ясно, чому значення відносяться до *референтної концентрації*, яка (наприклад, для алюмінію) значно нижча за ГДКс.д. ($0,01 \text{ мг/м}^3$ для Al_2O_3 або $0,03 \text{ мг/м}^3$ для алюмосиликатів, тобто, пилу). Де і в яких умовах вимірювались референтні концентрації? Як відомо, *ГДКс.д.* (згідно з визначенням) - *концентрація, яка не надає протягом усього життя прямої або непрямой несприятливої дії на дане або майбутні покоління, не знижує працездатності людини, не погіршує його самопочуття і санітарно-побутових умов життя.*

Ще одна цитата: «За умови надходження металів з питною водою за HQ ризик неканцерогенних ефектів наступний: для Cr- середній, для Ag - високий, для Mn та Cr - надзвичайно високий» [С. 267]. Неясно, який саме ризик для хрому — середній або надзвичайно високий?

В цілому, використані методики розрахунків та/або похідні дані, за допомогою яких авторка доходить висновку «Доведено, що у структурі металів, які формують неканцерогенний ризик здоров'ю, переважає Алюміній (57,6%), на другому місці – Манган (28,8%) та третьому - Хром (14,38%)» викликають серйозні питання з точки зору здорового глузду. Алюміній – найпоширеніший метал на планеті. Людство мешкає в оточенні сполук Al протягом всього часу існування. Стійкість до корозії металевого алюмінію за рахунок швидкого утворення міцних оксидних плівок, що захищають поверхню від подальшої взаємодії (саме це дозволило використовувати алюміній для виготовлення посуду та фольги для упаковки харчових продуктів) і низька токсичність його сполук (у порівнянні зі сполуками Ag, Cr, Mn) доведена багаторазово (в тому числі експериментами Ірини Миколаївни, результати яких наведені в розділі 5) і не підлягає сумніву. Тому отримані в результаті моделювання висновки здаються дивовижними.

У **Розділі 8** проведено обґрунтування оптимальних рівнів вмісту металів у біологічних середовищах людини. Розділ надзвичайно цікавий та корисний, Ірина Миколаївна добре орієнтується в питаннях різних підходів щодо умовного нормування токсичних та есенціальних елементів. На підставі власних досліджень авторкою обґрунтовано доцільність моніторингу металів у біологічних середовищах для оцінки ризику для здоров'я людини. Для мешканців Києву визначено орієнтовні рівні вмісту металів у крові: Al – $0,2 \text{ мг/л}$, Ag – $0,02 \text{ мг/л}$, Cr – $0,02 \text{ мг/л}$, Mn – $0,038 \text{ мг/л}$, перевищення яких характеризує довкілля, як середовище підвищеного ризику за даними металами.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» є заключною частиною дисертації, в якій авторка проводить інтегральну оцінку одержаних результатів, виділяє найбільш важливі теоретичні положення, співставляє їх з даними літератури і формулює положення для подальшого впровадження в практику. В ході виконання дисертації І.М.Андрусишиною було виконано значний обсяг роботи, тому цей досвід має безсумнівне значення. Авторка доказує, що вивчення балансу хімічних елементів в біосистемі «людина-довкілля» на конкретній території проживання, дозволить проводити гігієнічний моніторинг стану здоров'я населення, формувати групи ризику по гіпо- та гіпермікроелементозам, складати карти екологічної та техногенної небезпеки регіонів, обґрунтовувати рекомендації щодо корекції мікроелементного дисбалансу для населення та працюючих. Основними блоками реалізації цього є: еколого-гігієнічний моніторинг, характеристика екологічної безпеки, гігієнічна діагностика впливу екологічних чинників на гігієнічне прогнозування, впровадження системи профілактичних заходів та оцінка їх ефективності.

Висновки в цілому (за винятком результатів оцінки ризику) відповідають поставленим в роботі завданням, випливають із одержаних результатів, містять нові, важливі в теоретичному і практичному плані положення.

Список використаних джерел оформлений згідно з сучасними вимогами, містить 430 найменувань, з яких 276 викладено кирилицею, а 154 - латиницею.

Додатки (шість) включають 2 опитувальних анкети (Додаток А), надзвичайно важливі та цікаві дані власних досліджень елементного аналізу різних об'єктів (Додатки Б, В), Міграційні особливості металів у організмі людини (Додаток С), акти впровадження (Додаток Д), перелік опублікованих праць (Додаток Е).

Недоліки дисертаційної роботи та автореферату щодо їх змісту і оформлення. Аналіз змісту і технічного оформлення дисертації і автореферату Андрусишиної Ірини Миколаївни показав, що вони відповідають вимогам ДАК України, що дозволяє оцінити дисертаційну роботу **в цілому позитивно**.

В той же час, крім наведених вище, є ряд загальних зауважень:

1. В тексті зустрічаються невдалі формулювання «МЧ – нітрати металів» де під мікрочастками фактично йде річ про комплексні сполуки невизначеного складу ПВП-метал, які утворюються при додаванні ПВП (полівінілпіролідону) до істинних розчинів солей (нітратів металів), «формування внутрішнього забруднення організму», «накопичення хімічних елементів у слині» тощо.
2. В формулі визначення аерогенного надходження металів $АН = C_n \cdot ХОД \cdot 1440 \times В$ (Формула 2.3) є принципова помилка: C_n - середньорічна концентрація речовини у повітрі, $мг/м^3$, $ХОД$ - хвилинний об'єм дихання для людини даного вікового періоду ($мл/хв.г$), $В$ - середня вага обстежених, $кг$. Щоб згідно з формулою отримати дозу $мг$, необхідно використовувати одні одиниці об'єму ($м^3$). $1 м^3 = 1 \times 10^6$ $мл$. При цьому формула набуде

наступний вигляд: $АН = C_n \cdot ХОД \cdot 1440/1000000$. Таким чином, всі результати надходження металів з повітрям в розрахунках перевищенні на 6 порядків. А якщо врахувати, що результат множиться ще на середню вагу (70 кг), то й в 70 000 000 разів. Можливо саме тому авторка доходить висновку, що «У структурі неканцерогенного ризику здоров'ю переважає повітряне середовище - 95,6%» [С. 9. Анотація].

3. На мій погляд, розроблена методика розрахунку індексів транслокації металів, як відношення концентрації металу в продуктах харчування (воді, повітрі) до його вмісту в крові, та індексу транспортної міграції (ІТМ) – відношення концентрації у волоссі до концентрації у цільній крові», також викликає багато питань. Відомо, що 1. концентрація токсикантів в крові швидко знижується після закінчення експозиції, тому залежить від часу після експозиції, який складно врахувати; 2. Всі індекси розраховуються до вмісту в крові, тобто до одного і того ж числа, яке залежить одночасно від експозиції з водою, харчовими продуктами, повітрям, ліками тощо. Робити висновок про транспортну міграцію по співвідношенню концентрацій в крові та волоссі некоректно, тому що при цьому не враховується кінетика надходження та перерозподілу токсиканта при різній експозиції, яка може відрізнятись у періодах росту волосся. Втім це зауваження носить дискусійний характер.

Враховуючи великий і різноплановий матеріал дисертації, який призначений вирішити надзвичайно складну проблему гігієнічної оцінки впливу металів на ендокринну систему як техногенних факторів малої інтенсивності, представляє суттєвий науковий інтерес ряд дискусійних запитань, відповіді на які бажано надати в ході офіційного захисту.

1. Виходячи з назви дисертації, чи вважає авторка сполуки алюмінію саме *техногенним* фактором малої інтенсивності?
2. Автором вводиться поняття ступінь адаптованості $A = n \sum Kk / N$ (формула 2.6.). Який фізичний, біохімічний або фізіологічний сенс показника A ? Чи існують чисельні градації, вище чи нижче яких показник A повинен викликати занепокоєння? Чи коректно встановлювати ступінь адаптованості лише по результатах зміни елементного обміну?
3. Чи були виявлені зміни з боку ендокринної системи у працівників досліджених професій, умови праця яких пов'язані з надзвичайно високими концентраціями сполук Al, Ag, Cr, Mn? Чи відрізнялась частота виникнення ендокринних патологій від такої для інших мешканців Києва, які працюють у більш сприятливих умовах? Чи були забезпечені ЗІЗ органів дихання робітники в визначених умовах праці («Вміст важких металів також був вищим за діючі ГДК в Україні: Mn - у 80 разів, Fe - у 7,7 разів та Al - у 98 разів») [С. 3. Анотація]?
4. При виборі доз для підгострого інтраперитонеального та перорального введення розчинних солей металів наведено їхнє відношення до відповідних LD₅₀. Були ці LD₅₀ встановлені в лабораторії експериментальним шляхом чи використані літературні дані?

5. Чим можна пояснити розбіжності в даних біохімічних показників контрольних щурів (йод ЩЗ, глюкоза, С-пептид) (табл. 5.5.1-5.5.5)? Чи існують у щурів фізіологічні добові, сезонні коливання рівню гормонів і чи були вони враховані в експерименті?
6. Яким методом визначався вміст йоду в ЩЗ?

Слід ще раз підкреслити, що питання поставлені виключно в плані наукової дискусії, з урахуванням виконаної авторкою власноруч на високому науково-методичному рівні доброякісної і перспективної у токсиколого-гігієнічному значенні дисертаційної роботи.

Рекомендації щодо використання одержаних в дисертації результатів в практику. Результати дослідження дозволяють рекомендувати: 1. З метою покращення моніторингу металів у повітрі робочої зони працюючих, рекомендується додатково застосовувати відбір проб повітря у водні середовища, що дасть змогу більш ефективно оцінити хімічний стан повітря робочої зони. 2. З метою удосконалення діагностики мікроелементозів, що пов'язані з порушенням роботи ендокринної системи, рекомендується застосувати комплексний підхід, а саме визначення елементів у декількох біологічних середовищах (цільна кров та волосся, сироватка та слина, цільна кров, нігті). За умов порушення роботи ЩЗ рекомендовано визначати у волоссі та цільній крові K, Mg, Mn, Se, Zn, а за умов патології ПЗ – Al, Cr, Zn, Mn.

ВИСНОВОК

Дисертація Андрусишиної Ірини Миколаївни на тему: «Гігієнічна оцінка впливу металів на ендокринну систему як техногенних факторів малої інтенсивності», є самостійною завершеною науково-дослідною роботою, що містить вирішення актуальної і важливої проблеми гігієнічної оцінки впливу малих доз металів на ендокринну систему.

За актуальністю, рівнем наукової новизни та практичним значенням дисертаційна робота Андрусишиної Ірини Миколаївни в цілому відповідає п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів» щодо докторських дисертацій, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 зі змінами та доповненнями, а її авторка, наполеглива та працездатна дослідниця, **заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.02.01 – гігієна та професійна патологія.**

Офіційний опонент

Завідувач лабораторії промислової та екологічної токсикології ДП «Український НДІ медицини транспорту МОЗ України»,
доктор біологічних наук, старший науковий співробітник


О.Г.Пихтеєва

Підпис зав. лабораторії промислової та екологічної токсикології д.б.н., с.н.с. О.Г.Пихтеєвої засвідчую:

Вчений секретар ДП «Український НДІ медицини транспорту МОЗ України», к.б.н.




Н.С.Бадюк