

ОТЗЫВ

официального оппонента по диссертационной работе

Гилевой Ольги Владимировны

«Методическое обеспечение гигиенической оценки опасности

воздействия ванадия на организм детей в зоне размещения

металлургических производств феррованадиевых сплавов», представленной

на соискание ученой степени кандидата биологических наук по

специальности 14.02.01 - Гигиена

Актуальность избранной темы диссертационного исследования.

Актуальность избранной диссертантом темы не вызывает сомнений. В настоящее время одной из приоритетных гигиенических задач является защиты окружающей среды и населения от антропогенного воздействия промышленных предприятий, предотвращение воздействия вредных химических факторов на здоровье населения.

Одним из основных источников выбросов ванадия в России является крупнейший в Европе металлургический завод по производству феррованадиевых сплавов в г. Чусовой Пермского края, который ежегодно выбрасывает свыше 12 тонн пентоксида ванадия. Высокая токсичность ванадия (I класс опасности) будет определять состояние здоровья населения, особенно детского, проживающего в зоне влияния выбросов феррованадиевого производства, и определяет степень ответственности при контроле состояния атмосферного воздуха на содержание ванадия и его соединений.

Для предупреждения, защиты и устранения вредного воздействия химических факторов необходимо постоянное развитие методов контроля и оценки воздействия. Решение этих вопросов возможно только при наличии современных аналитических методов определения содержания токсикантов и в объектах окружающей среды, и биологических средах человека. Поэтому развитие современных и высокотехнологичных методов измерения является важной и актуальной задачей.

Предметом исследования диссертационной работы являются вопросы, связанные с разработкой методов определения ванадия в объектах окружающей среды и биосредах, причинно-следственные связи и зависимости, возникающие при ингаляционном воздействии ванадия, обладающего иммунотоксическим эффектом. Объектами исследования в работе являются атмосферный воздух территории, расположенной в зоне влияния металлургического производства, биологические среды (кровь, моча) детского населения, проживающего на территориях с различным уровнем загрязнения атмосферного воздуха ванадием.

Автором подробно изучены и критически анализируются известные достижения в этой области. Автор на основе анализа литературных данных показывает, что химико-аналитические методы определения ванадия по чувствительности и селективности (А.Г. Малышева, Ю.А. Рахманин, Н.В. Зайцева, Т.С. Уланова и другие) должны работать на уровне ниже референтных концентрация ванадия при хроническом ингаляционном воздействии, который составляет $0,00007 \text{ мг/м}^3$, что в 30 раз ниже ПДКс.с, установленного на уровне $0,002 \text{ мг/м}^3$. В такой ситуации возрастает необходимость совершенствования нормативно-методической базы и разработки новых высокочувствительных и селективных методов определения.

Существующие методы определения ванадия в биологических средах не устанавливают конкретных требований к подготовке проб, параметрам настройки аппаратуры, что вызывает определенные трудности их использования на практике. Поэтому актуальность диссертации, в которой изложены научно-обоснованные гигиенические подходы оценки воздействия ванадия на организм детей в зоне размещения металлургических производств феррованадиевых сплавов не вызывает сомнения.

В ходе выполнения научных исследований автор поставила и решила следующие задачи:

1. Разработать комплекс современных высокочувствительных методов определения массовой концентрации ванадия в атмосферном воздухе и биосредах (кровь, моча) человека на базе масс-спектрометрии с индуктивно связанной

плазмой (ICP-MS).

2. Оценить связь уровней загрязнения объектов окружающей среды с содержанием ванадия в биосредах детей, проживающих в регионах с разным уровнем антропогенной нагрузки, и установить региональные фоновые и реперные уровни содержания ванадия в биосредах детского населения Пермского края.

3. Обосновать маркеры экспозиции и маркеры ответной реакции организма детей при хроническом ингаляционном поступлении ванадия в организм.

4. Разработать рекомендации по санитарно-гигиеническим и профилактическим мероприятиям, направленным на предупреждение и устранение вредного воздействия ванадия на территориях с размещением металлургических производств феррованадиевых сплавов.

Решение указанных задач позволили разработать и обосновать комплекс современных методов определения ванадия в атмосферном воздухе и биосредах населения, который представляются эффективным инструментом обоснования санитарно-гигиенических и медико-профилактических мероприятий для управления ситуацией.

Научная новизна работы Гилевой О.В. является несомненной.

Во-первых, обоснованные параметры отбора проб и подготовки проб атмосферного воздуха и параметры настройки чувствительности масс-спектрометра, позволили установить нижний предел определения ванадия методом ICP-MS значительно ниже референтной концентрации.

Во-вторых, обоснованные параметры подготовки биосубстратов человека для последующего анализа, учет и минимизация матричных и интерференционных помех при определении ванадия позволили снизить нижний предел определения до $0,1 \text{ мкг/дм}^3$ с погрешностью определения, не превышающей 32%.

В-третьих, на основе разработанных методов определения ванадия выявлены зависимости между его содержанием в атмосферном воздухе и биосубстратах (кровь, моча) детей; получены достоверные модели связи между

содержанием ванадия в крови и клинико-лабораторными показателями крови, по критерию отношения шансов (OR) - повышение уровня специфического к ванадию иммуноглобулина IgG, повышение уровня общего иммуноглобулина IgE, снижение общего иммуноглобулина IgA и фагоцитарного числа.

В-четвёртых, построены математические модели, отражающие зависимость «экспозиция — маркер экспозиции», которые показали, что маркером ингаляционной экспозиции ванадия является его концентрация в крови.

В-пятых, впервые установлено, что наиболее чувствительным маркерным показателем аэрогенного воздействия элемента является повышение содержания специфического к ванадию IgG в сыворотке крови.

Также разработаны, доказаны и предложены критерии гигиенической оценки в виде реперных уровней содержания ванадия в крови и атмосферном воздухе.

Практическое значение. Работа Гилевой О.В. имеет большое практическое значение и подтверждается разработкой и внедрением в практику следующих документов.

Разработан МУК 4.1.2953-11 «Определение массовой концентрации ванадия в атмосферном воздухе методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой», который зарегистрирован в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений (ФР.1.31.2011.09887).

Разработан и запатентован способ определения концентрации ванадия в атмосферном воздухе методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (патент на изобретение РФ № RU 2466096 C1 от 08.04.2011 г.).

Разработана методика выполнения измерений массовой концентрации элементов, в том числе и ванадия, в биосредах человека (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой с октопольной реакционной/столкновительной ячейкой. Разработанная методика прошла метрологическую аттестацию и зарегистрирована в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений под номером ФР.31.2014.17064.

Результаты выполненных исследований использованы при подготовке информационных документов:

1. Экспертных заключений «Санитарно-гигиеническая оценка воздействия факторов среды обитания на здоровье детского населения Чусовского городского поселения» (Предписание Управления Роспотребнадзора по Пермскому краю № 262 от 15.02.2011; № 206 от 07.02.2012).
2. Информационно-методического письма «О результатах определения ванадия в атмосферном воздухе методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой» (приказ № 161 от 7.10.2014 г.).

Общая характеристика диссертационной работы. Работа изложена на 233 страницах машинописного текста, содержит 40 таблиц, 16 рисунков. Состоит из введения, аналитического обзора литературы, главы материалов и методов исследования, 3-х глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, библиографии, 3 приложений. Диссертация иллюстрирована 40 таблицами, 16 рисунками. Библиография включает 177 отечественных и 150 зарубежных источников.

Во введении рассмотрены актуальность, практическая ценность, сформулированы цели работы и поставлены задачи, решение которых необходимы для достижения поставленной цели. Обоснована научная новизна, практическая значимость полученных результатов.

В главе 2 показаны объекты, материалы, методы и объём исследований.

В главе 3 подробно рассмотрена разработка высокочувствительного метода определения ванадия в атмосферном воздухе. В главе приводятся материалы, характеризующие параметры подготовки и отбора проб, параметры настройки чувствительности масс-спектрометра, градуировочная характеристика и диапазоны количественного определения, метрологические характеристики метода, подтверждающие точность и достоверность результатов.

Автор показала возможности применения различных минеральных кислот для разложения и растворения образцов проб атмосферного воздуха, доказала, что

оптимальным является использование азотной кислоты, поскольку фоновый спектр ICP-MS в этом случае относительно прост.

При анализе атмосферного воздуха соискатель установила, что наиболее достоверные данные достигаются при непродолжительном (порядка 30 мин.) отборе пробы. На основании анализа холостых фильтров ($n=20$) было установлено, что нижний предел количественного определения ванадия при отборе 1-2 м³ воздуха составил 0,000005 мг/м³. Для обнаружения меньших концентраций (фоновых уровней экспозиции) отбирали 20 м³ воздуха, и определили предел определения непосредственно в анализируемом растворе, составляющий 0,00000025 мг/м³.

На основании проведенных исследований разработаны методы определения разовых и среднесуточных массовых концентраций ванадия в атмосферном воздухе с использованием масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в диапазоне 0,000005 - 0,01 мг/м³ при отборе 1-2 м³ воздуха, 0,05-50,0 мкг/дм³ в анализируемом растворе (0,00000025-0,01 мг/м³) при отборе 20 м³ воздуха с погрешностью определения 21 % при $p = 0,95$.

Глава 4 посвящена разработке метода определения ванадия в биосредах (кровь, моча) человека. Основными этапами разработки метода определения ванадия в биологических средах человека являлись выбор условий разрушения матричной структуры образцов (пробоподготовка), выбор оптимального элемента внутреннего сравнения, обоснование способов устранения интерференционных и матричных помех, установление диапазона определяемых концентраций.

Автор показала возможное использование для разложения проб крови два способа пробоподготовки - микроволновое разложение при температуре 175° С и давлении 50 бар и кислотное растворение в 70% азотной кислоте при нагревании. Полученные результаты после кислотного и микроволнового разложения, не выявили достоверных различий. Вместе с тем показано, что использование микроволнового способа затруднено в рутинной клинической практике, поскольку требует больших объемов исследуемого образца, реактивов и времени, необходимого для проведения анализа.

При разработке методики диссертант учитывала возможность появления спектра полиатомных ионов, которые могут вызвать существенное завышение результатов анализа. Интерференционные влияния при определении ванадия в различных образцах могут оказывать следующие ионы: $^{15}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$, $^{37}\text{Cl}^{14}\text{N}^+$, $^{36}\text{Ar}^{15}\text{N}^+$, $^{34}\text{S}^{16}\text{OH}^+$, $^{36}\text{S}^{15}\text{N}^+$, $^{36}\text{Ar}^{14}\text{NH}^+$, $^{33}\text{S}^{18}\text{O}^+$, $^{34}\text{S}^{17}\text{O}^+$, $^{38}\text{Ar}^{13}\text{C}^+$, $^{25}\text{Mg}^{26}\text{Mg}^+$. Наиболее значимое наложение при определении элемента в биологических жидкостях оказывают ионы $^{15}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ за счет естественного содержания хлорид-ионов в матричном составе образцов. Для снижения влияния ионов $^{15}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ при разложении и разбавлении биологических проб использовалась азотная кислота. Для уменьшения помех хлорсодержащих полиатомных ионов аппаратными средствами в квадрупольном масс-спектрометре автор применяла столкновительную/реакционную ячейку (ORS), переводя прибор в реакционный режим (Reaction Mode).

В главе 5 рассмотрены скрининговые гигиенические и медико-биологические исследования в зоне влияния феррованадиевого производства. В диссертационном исследовании большое внимание автор уделила гигиенической оценке качества атмосферного воздуха и питьевого водоснабжения. Удачно использован приём предоставления результатов в виде зависимости расчетной величины коэффициентов опасности (HQ) по отношению к RfCхр, наложенные на рельеф местности. Показано, что в непосредственной близости от завода «ОАО ЧМЗ» и в границах СЗЗ фиксировались превышение уровня RfCхр более чем в 20 раз и только на расстоянии 2500 м от источника загрязнения содержания ванадия в атмосферном воздухе не превышало RfCхр.

При оценке риска здоровья населения Гилева О.В. выделила в зависимости от содержания ванадия в атмосферном воздухе и питьевой воде три зоны наблюдения (среднесуточная концентрация в воздухе которых колебалась от $1,9\text{E}-6$ до $4,2\text{E}-4$ мг/м³, в питьевой воде от $2\text{E}-6$ до $5\text{E}-5$ мг/м³). Показано, что в зоне 3 ($4,2\text{E}-4$) формируется неприемлимый риск в отношении органов дыхания (HQ=6), а для питьевой воды коэффициент опасности ничтожно мал и не учитывается в суммарном значении риска.

Далее автор провела обоснование региональных фоновых значений уровней ванадия в биосредах детского населения. Обоснование фоновых значений является одной из важных гигиенических проблем, так как это дает возможность оценить антропологическое воздействие различных факторов на окружающую среду и население.

Для проведения экспериментальных исследований автор выбрала две относительно чистые территории, поселки Б. Соснова и Сива с содержанием ванадия в атмосферном воздухе от $1\text{E-}6$ до $2\text{E-}6$ мг/м³, в моче $6,3\text{E-}4$ до $8,8\text{E-}4$ мг/дм³ и крови $1,4\text{E-}4$ до $4,2\text{E-}4$.

На основе многолетних исследований Гилева О.В. показала, что распределение ванадия в крови подчиняется усеченному нормальному распределению, а в моче - нормальному. Зная закон распределения, используя методы вариационной статистики, диссертант установила региональные фоновые значения содержания ванадия в крови ($0,00013$ мг/дм³) и в моче ($0,00064$ мг/дм³).

Следует особо подчеркнуть важность биологических исследований автора по обоснованию маркеров антропогенной экспозиции ванадия и маркерных показателей ответной реакции в организме. На основании медико-биологических исследований детей, проживающих в условиях хронической аэрогенной экспозиции ванадия, диссертант получила достоверные модели связи между содержанием металла в крови и уровнем ряда иммунологических и биохимических показателей в сыворотках крови и уровнем общего белка ($F=724,8$, $R^2=0,24$, $p=0,0001$), активностью АСАТ ($F=32,9$, $R^2=0,27$, $p=0,0001$), содержанием иммуноглобулинов IgG ($F=137,5$, $R^2=0,45$, $p=0,00004$), IgA ($F=535,1$, $R^2=0,58$, $p=0,00004$), IgE общий ($F=188,2$, $R^2=0,74$, $p=0,00005$), фагоцитарное число ($F=3389,2$, $R^2=0,57$, $p=0,0001$), IgG специфичный к ванадию ($F=147,8$, $R^2=0,78$, $p=0,00007$). Это позволило автору обосновать маркеры ответной реакции организма детей. К ним относятся специфичный ванадий IgG, фагоцитарное число, содержащие общее IgE и IgA.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. Все основные положения, сформулированные в работе, имеют

высокую степень обоснованности. Диссертационный материал построен на основании последовательного сравнительного изучения существующей утвержденной нормативно-методической базы и разработке современных методов определения ванадия в атмосферном воздухе на уровне референтной концентрации и биологических средах населения на базе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Репрезентативный объём исследуемого фактического материала и представленной информации о загрязнении ванадием атмосферного воздуха и питьевой воды населенных мест в зоне влияния металлургического производства и контрольных условно чистых территорий, контаминации биосред детского населения и показателей ответной реакции организма детей, оцененных по комплексу иммунологических и биохимических показателей, а также современный методический уровень обработки и анализа полученных данных, сопоставление с данными современной научной литературы дают право говорить о корректной обработке результатов.

Все фрагменты диссертационной работы логично взаимосвязаны и выполнены на единой научно-методической основе. Поставленные цель и задачи исследования полностью соответствуют теме работы и адекватны профилю научной специальности. В целом по диссертации и, в частности, по ее задачам, получены новые научные результаты, полностью обоснованные в ходе научного анализа достаточного объема информации.

Выводы вытекают из материалов диссертации, хорошо аргументированы, отражают все основные этапы работы. На основе полученных результатов обоснованы принципы использования комплексного подхода, направленного на повышение эффективности взаимосвязанных санитарно-гигиенических и медико-профилактических мероприятий, в целях предупреждения и снижения вредного воздействия ванадия на здоровье детей.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций. Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций определяется высокой степенью репрезентативности выборок контингента детей в контрольной группе и группах наблюдения, достаточной кратностью наблюдений. В работе использован комплекс современных и адекватных методов исследования (санитарно-гигиенических, оценки риска неканцерогенных эффектов при воздействии химических факторов среды обитания, клинических, химико-аналитических, биохимических, иммунологических, статистической обработки цифрового материала и моделирования причинно-следственных связей), позволяющих объективно и с высокой степенью точности решить поставленные задачи. Исследования выполнены в соответствии с соблюдением международных этических правил и стандартов. Все разделы работы являются завершенными, логично взаимосвязанными, базирующимися на достоверных научных данных.

В качестве новых научных результатов диссертантом выдвинуты следующие положения;

При гигиенической оценке территорий с размещением профильных металлургических предприятий, оценке уровня контаминации биосред (кровь, моча) населения на содержание ванадия и оценке последствий негативного воздействия элемента оптимальным является разработанный комплекс методов определения на базе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, высокую селективность и чувствительность которых обеспечивают обоснованные параметры отбора и подготовки проб, параметры настройки чувствительности масс-спектрометра, оптимальные параметры реакционного режима работы прибора с октопольной реакционной/столкновительной ячейкой.

Повышенные уровни содержания ванадия в крови, обусловленные аэрогенной экспозицией, являются маркерами этой экспозиции. Наиболее чувствительным маркерным показателем ответной реакции организма является

специфический к ванадию иммуноглобулин IgG, начальные отклонения от нормы которого определяют значения реперных уровней элемента в крови и атмосферном воздухе.

Для оценки опасности вредного воздействия ванадия на организм детей могут служить гигиенические критерии в виде региональных фоновый уровней ванадия в крови и моче детей Пермского края, реперные уровни элемента в крови и атмосферном воздухе, которые позволяют адекватно оценить реальную экспозицию населения.

По результатам исследования опубликовано 20 печатных работ, в том числе 8 в изданиях, рекомендованных ВАК, получен 1 патент на изобретение. Диссертация апробирована на заседании Ученого совета ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» г. Пермь 20 февраля 2014 года, и на заседании диссертационного совета ФГБУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина» 2 июля 2014 года. Результаты исследования неоднократно обсуждались на различных конференциях и получили одобрение специалистов.

Результаты практической направленности, содержащиеся в диссертации, могут быть использованы специалистами Роспотребнадзора при проведении социально-гигиенического мониторинга.

В целом диссертационная работа выполнена на хорошем научном уровне. Она представляет научно-квалификационную работу, в которой реализован комплексный подход к гигиенической оценке воздействия ванадия на организм детей, проживающих в зоне размещения металлургических производств.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с существующими требованиями, принципиальных замечаний нет. Работа базируется на достаточном числе исходных данных, примеров и расчетов. Она написана доходчиво, грамотно и аккуратно оформлена. По каждой главе и работе в целом сделаны четкие выводы.

Диссертационная работа Гилевой О.В. «Методическое обеспечение гигиенической оценки опасности воздействия ванадия на организм детей в зоне размещения металлургических производств феррованадиевых сплавов» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена задача, имеющая существенное значение в области гигиены, и по своей актуальности, научной новизне, практической значимости полностью отвечает критериям и требованиям Положения о присуждении ученых степеней (утв. Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор Гилева Ольга Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.02.01-Гигиена.

Доктор биологических наук,
кандидат химических наук,
Профессор экологического факультета РУДН

Лашченова
Татьяна Николаевна

Подпись Т.Н. Лашченовой подтверждаю:
Зам. декана по научной работе экологического факультета РУДН,
кандидат геолого-минералогических наук



«02» декабря 2014 г.