

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Зацепиной Ольги Валерьевны

«Оценка генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.02.01 – Гигиена

Актуальность избранной темы диссертационного исследования. В соответствии с нормативными гигиеническими требованиями питьевая вода, предназначенная для потребления человеком, должна быть безопасной в эпидемическом и радиационном отношении, иметь благоприятные органолептические свойства и безвредный химический состав. Специалистами активно ведутся исследования по оценке влияние различных технологий очистки и подготовки воды, применяемых в промышленных масштабах, на ее безопасность, в том числе на генотоксическую активность, разрабатываются методические и методологические подходы для ее оценки. Одновременно, широкое распространение получают разнообразные альтернативные технологии водоподготовки. Анализ доступной литературы показывает, что эти технологии преимущественно основаны на явлении электрохимической активации. Приборы для электрохимической, в том числе неконтактной, активации воды производятся как в России, так и в других странах, широко рекламируются и рекомендуются для использования населением. По нормативам СанПиН вода, полученная с использованием электрохимических активаторов, удовлетворяет предъявляемым требованиям, однако вопрос о ее безопасности вследствие отсутствия экспериментальных исследований остается открытым. Очевидно, без всесторонней оценки безопасности потребления таких вод, бесконтрольная продажа и пропаганда использования в быту приборов для неконтактной электрохимической активации питьевых вод не допустима. Исходя из этого, целью работы автором была определена оценка генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной (электрохимической) активацией, и создание минимального набора тестов для проведения рутинных исследований активированных вод на наличие генотоксической активности.

Научная новизна. В диссертационной работе впервые показано, что:

- неконтактно активированные воды индуцируют генотоксические эффекты, проявляемые в половых клетках *D.melanogaster*, в культивируемых клетках крови человека и клетках костного мозга мышей *in vivo*.

- отрицательная ассоциативная связь между пролиферативной активностью и частотой клеток с цитогенетическими повреждениями соблюдается только для анолитов, в то время как для католитов эта связь прямая
- генотоксические эффекты неконтактно активированных вод, индуцируемые в живых объектах, находящихся на разных уровнях организации, связаны не только с условиями активации, но и с составом (минерализацией) исходной воды
- результаты оценки стабильности генома на культуре клеток крови человека корректно качественно прогнозируют цитогенетический эффект неконтактно активированных вод в клетках костного мозга мышей в условиях подострого эксперимента

Практическая значимость. Показано, что питьевые воды, полученные неконтактной электрохимической активацией, не могут быть рекомендованы к применению населением без предварительной оценки отдаленных последствий их потребления в системе краткосрочных тестов.

На основе результатов исследований обоснована необходимость изучения потенциальных генотоксических эффектов вод, полученных на приборах для электрохимической активации питьевых вод перед выдачей разрешительной документации к их применению.

Для решения задач генетико-токсикологического скрининга предложен алгоритм и методы определения генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной (электрохимической) активацией, что создает экспериментальную базу для определения риска развития генотоксических эффектов у потребителей активированной воды в быту и может быть использовано при выборе безопасных приборов и условий получения НАВ.

По материалам исследования разработаны и утверждены Председателем Проблемной комиссии по экологии человека и гигиене окружающей среды академиком РАН Ю.А. Рахманиным методические рекомендации по оценке генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией.

Общая характеристика диссертационной работы. Работа изложена на 161 странице компьютерной верстки. Состоит из введения, аналитического обзора литературы, главы материалов и методов исследования, 5 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, библиографического списка и 3 приложений на 75 страницах. Диссертация иллюстрирована 44 таблицами и 31 рисунком, библиография включает 121 отечественных и 61 зарубежных источников.

Раздел «Введение» содержит обоснование актуальности проведенного диссертационного исследования, его цели и задачи, научную новизну, методическую

новизну и практическую значимость полученных результатов, выносимые на защиту положения, обоснование достоверности результатов, определение личного вклада автора, апробацию работы.

В главе **«Обзор литературы»** автором проведен аналитический обзор современного состояния проблематики оценки безопасности питьевых вод, в частности, электрохимически активированных, с акцентированием внимания на проблеме изучении генотоксических последствий их потребления. На основе анализа обоснована актуальность разработки системы экспериментальной оценки генетической безопасности питьевых вод с использованием комплекса рутинных тестов *in vitro* и *in vivo*.

В главе **«Материалы и методы исследований»** приведены характеристики питьевых вод, использованных для электрохимической активации, описан и хорошо проиллюстрирован процесс проведения активации, представлены методы определения физико-химических характеристик активированных вод. Подробно описаны отобранные для проведения исследования методы генотоксикологических исследований – микроядерный тест *in vitro* с цитокинетическим блоком на культивируемых лимфоцитах человека, тест на индукцию хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей и тест на индукцию доминантных летальных мутаций в половых клетках дрозофилы. Описаны статистические методы обработки полученных в каждом тесте данных, приведен общий объем проведенных исследований.

В главах 3-7 представлены результаты собственных исследований. В ходе проведения экспериментов установлено, что все образцы неконтактно активированных вод, полученных на основе осмотической, водопроводной или бутилированной воды оказывают негативное влияние на показатели нестабильности генома клеток как *in vitro* в системе, так и в условиях *in vivo*. На основе совокупности полученных данных предложен алгоритм оценки потенциальной генотоксичности вод с использованием минимальной батареи тестов.

Глава 8 посвящена обобщению и анализу полученных экспериментальных данных. Проведен анализ взаимосвязей физико-химических свойств активированных вод с проявлением их генотоксических эффектов на различных тест-объектах. Предложены возможные механизмы генотоксического потенциала активированных вод, в том числе свободно-радикальный механизм.

Значительный объем проведенных исследований с использованием общепринятых верифицированных методов и всесторонний анализ полученных данных с применением различных статистических методов позволили автору сделать обоснованные выводы заключение и практические рекомендации.

Резюмируя, диссертационная работа оформлена в соответствии требованиями, принципиальных замечаний нет. Работа написана доходчиво, грамотно и аккуратно оформлена. По каждой главе и работе в целом сделаны четкие выводы. Все фрагменты диссертационной работы логично взаимосвязаны и выполнены на единой научно-методической основе. Работа базируется на достаточном числе исходных данных, примеров и расчетов. 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.

Апробация результатов. По теме диссертации автором опубликовано 14 работ, в том числе, 3 - в изданиях, включенных в перечень ВАК, и 1 в зарубежной периодике.

Работа докладывалась и обсуждалась на следующих мероприятиях: Экватэк 2012 «Вода, экология и технология» (секция «Энергоинформационные технологии»), Москва, 5-6 июня 2012; 42 Annual Meeting of European Environmental Mutagenic Society (EEMS), Польша, Варшава, 16-21 сентября 2012; IV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Окружающая среда и здоровье. Молодые ученые за устойчивое развитие страны в глобальном мире», Москва, 27-28 сентября 2012; VIII международном симпозиуме «Экология человека и медико-биологическая безопасность населения», Венгрия-Австрия, 20-29 октября 2012; Пленуме Научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды «Актуализированные проблемы здоровья человека и среды обитания и пути их решения», Москва, 12-13 декабря 2012; XVIII Всероссийском конгрессе «Экология и здоровье человека», Самара 8-10 октября 2013; IV съезде токсикологов России, Москва 6 – 8 ноября 2013; Пленуме Научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РФ «Приоритеты профилактического здравоохранения в устойчивом развитии общества: состояние и пути решения проблем», Москва 12-13 декабря 2013; VIII Всероссийском форуме «Здоровье нации – основа процветания России», Москва, 18-20 июня 2014; V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием молодых ученых и специалистов «Окружающая среда и здоровье. Здоровая среда – здоровое наследие», Москва, 25-26 сентября 2014.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций. Достоверность результатов обеспечена значительным объемом экспериментальных данных и их адекватной статистической обработкой. Определение физико-химических параметров активированных вод проведено на сертифицированном оборудовании с использованием стандартизованных методик. Применены современные

верифицированные и валидизированные методики цитогенетического анализа. В работе использованы кондиционные лабораторные животные. Используются репрезентативные для адекватной статистической обработки выборки тест-объектов (количество анализируемых клеток, количество животных для каждой экспериментальной точки итд.). Исследования выполнены с соблюдением международных этических правил и стандартов.

Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы. Прежде всего хочется отметить колоссальный объем экспериментальных данных, включающий не только результаты исследований на различных биологических тест-объектах, но и также результаты инструментального анализа широкого ряда физико-химических показателей тестируемых вод. Указанное свидетельствует о высокой квалификации автора диссертационной работы.

Особую ценность работе придает тот факт, что она выполнена на стыке нескольких научных дисциплин. При этом важно, что результаты исследования имеют практический выход в виде методических указаний по оценке генетической безопасности питьевых вод с измененными физико-химическими свойствами. В связи с этим возник вопрос: планируется ли утверждение разработанных методических указаний в виде нормативного документа федерального значения?

Как специалисту, использующему микроядерный тест *in vitro* в своих исследованиях, отдельно хочется отметить высокое качество цитогенетических препаратов культивируемых клеток крови человека.

К диссертационной работе имеется и два незначительных замечания.

1. В приложении Б приведен достаточно большой объем литературных сведений о биологической активности активированных вод. Принимая во внимание, что эти экспериментальные и клинические данные не имеют непосредственного отношения в теме диссертационного исследования и в более краткой форме они освещены в обзоре литературы, приложение Б представляется излишним.

2. В тексте работы, а также в выводах выявленные изменения митотической/пролиферативной активности и апоптотическая гибель клеток интерпретируются как проявление генотоксической активности исследованных вод. Следует избегать столь однозначной трактовки полученных данных, поскольку в ингибировании клеточной пролиферации и индукции апоптоза могут лежать и иные, отличные от генотоксического воздействия, механизмы.

Диссертационная работа Зацепиной О.В. «Оценка генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией» 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 и практической значимости полностью соответствует критериям и требованиям Положения о присуждении ученых степеней (Постановление Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор, Зацепина Ольга Валерьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.02.01-Гигиена.

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории
фармакологии мутагенеза
ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»

Жаннатаев Алий Курманович

Подпись Жаннатаева А.К. подтверждаю:

ученый секретарь ФГБНУ «НИИ фармакологии
им. В.В. Закусова»
кандидат медицинских наук



Крайнева В.А.

«15» марта 2015 г.