

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

заседания экспертной комиссии диссертационного совета Д 208.133.01 по рассмотрению диссертационной Зацепиной О.В. на тему «Оценка генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.02.01- Гигиена.

Состав комиссии: **Беляева Н.Н. (председатель), Егорова Н.А. и Хрипач Л.В. (члены комиссии)** утвержден на заседании Диссертационного совета Д 208.133.01 при ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н.Сысина» Минздрава России от 26 марта 2015 г. (протокол №3).

Комиссия рассмотрела диссертационную работу Зацепиной Ольги Валерьевны, руководителя Испытательного лабораторного центра ЗАО «Чистая вода» г. Самара и, параллельно, научного сотрудника лаборатории экологии человека НИИ гигиены и экологии человека (г.Самара), представленные оттиски научных публикаций и постановила:

Диссертация Зацепиной Ольги Валерьевны на тему: «Оценка генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией» соответствует специальности 14.02.01 - Гигиена, по которой совету предоставлено право принимать диссертации к защите.

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России и 1 публикация в иностранной печати. Материалы, представленные в диссертационной работе, достаточно полно изложены в следующих основных публикациях:

1. **Зацепина О.В.**, Стехин А.А., Яковлева Г.В. Ион-радикальные формы кислорода - основной показатель, отражающий электрон-донорную способность воды./ Гигиена и санитария. 2013.-№2 - с.83-87

2. **Зацепина О.В.**, Ингель Ф.И., Стехин А.А., Яковлева Г.В., Савостикова О.Н, Алексеева А.В., Иксанова Т.И. Изменение физико-химических параметров питьевой воды путем мембранной электрохимической активации влечет за собой возникновение эффектов нестабильности генома *in vitro* и *in vivo*. Известия Самарского научного центра Российской академии наук: Материалы докладов на XVIII Всероссийском конгрессе «Экология и здоровье человека», 8-10.10.2013, 2013.-том 15, №3(6).- с.1783-1790.

3. **Зацепина О.В.**, Ингель Ф.И., Стехин А.А., Яковлева Г.В. Влияние физически активированной воды на пролиферативную активность и апоптоз лимфоцитов крови человека *in vitro*./Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие. 2013.- т.8, №3.-с.44-55.

В иностранных журналах:

4. Ingel F, **Zatsepina O**, Stekhin A, Yakovleva G, Savostikova O, et al. (2013) Electrochemically Activated Tap Water Induced Effects of Genomic Instability in Various Living Objects In Vitro and In Vivo. Occup Med Health Aff2: 143. doi:10.4172/2329-6879.1000143. <http://dx.doi.org/10.4172/2329-6879.1000143>

Итоговая оценка оригинальности по системе проверки использования заимствованного материала «антиплагиат» без ссылки на автора составила 93,87%.

Комиссия рекомендует принять к защите диссертационную работу Зацепиной Ольги Валерьевны на тему: «Оценка генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией», которая посвящена решению задач, представляющих научный и практический интерес на ДС Д 208.133.01 по специальности 14.02.01 – Гигиена.

Актуальность работы.

Проблема качества питьевой воды на современном этапе развития цивилизации является ключевой, поскольку непосредственно связана с состоянием здоровья как ныне живущих, так и будущих поколений людей. Качество питьевой воды определяется не только ее химическим составом, содержанием микрофлоры, но и физико-химическими свойствами (Рахманин Ю.А., Кондратов В.К., 2002; Рахманин Ю.А., Стехин А.А., Яковлева Г.А., 2007; Савостикова О.Н., 2008). Поэтому в настоящее время широкое распространение получили разнообразные технологии водоподготовки, в результате которых физико-химические свойства питьевой воды заметно изменяются. Анализ литературы показал, что примерно в 80% случаев эти технологии основаны на процессе электролиза – электрохимической активации. Приборы для электрохимической активации воды производятся как в России, так и в других странах, широко рекламируются и рекомендуются для использования населением. Имеется большое количество публикаций, описывающих положительные результаты применения активированных вод непосредственно для лечения широкого спектра серьезных заболеваний у человека, таких как диабет, болезни кожи и органов желудочно-кишечного тракта, ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, стенокардия, онкологические заболевания (Бахир В.М. и др, 2001; Широносков и др, 2008; Shirahata S. et al, 2001; Abo-Enein et al, 2009; Osada K. et al, 2010). В то же время экспериментальных исследований биологических эффектов электрохимически активированных питьевых вод явно недостаточно для разрешения широкого использования населением: в доступной литературе удалось найти только данные, полученные на растениях и гидробионтах различных трофических уровней (Рахманин, Ю. А. Стехин А. А., Яковлева Г. В., 2007; Савостикова О.Н., 2008), а также публикации последнего времени по результатам исследований на животных

(Сычева Л.П. и др, 2014; Беляева Н.Н. и др., 2015), вышедшие в печать когда собственные данные уже были опубликованы.

Известно, что при контактной электрохимической активации в воду попадают ионы тяжелых металлов, источником которых является материал электродов, а также ионы, образующиеся при разложении воды и присутствующих в ней солей и продукты их последующего окисления или восстановления (Хачатрян А.П., Спиридонов А.Н., 2002). Поэтому для улучшения качества питьевой воды было предложено использовать неконтактную электрохимическую активацию (НА), когда питьевая вода в тонкостенном полиэтиленовом пакете погружается в емкость с контактно электрохимически активированной водой. В результате происходит изменение физических параметров воды, находящейся в пакете, которое не сопровождается изменением ее химического состава, что позволяет считать такую воду более безопасной, чем полученную в контактных электролизерах (Казанкин Д.С., Широносков В.Г., 2001). Поскольку в соответствии с регламентами применения электрохимических активаторов питьевой воды в прибор поступает вода, удовлетворяющая условиям СанПиН по химическому составу, и, следовательно, после активации вода также должна соответствовать этим условиям, вопрос об оценке безопасности электрохимически активированных вод ранее не поднимался.

Однако известно, что в процессе неконтактной электрохимической активации в воде изменяются окислительно-восстановительный потенциал (ОВП), доля связанной (структурированной) фазы (СФ) и другие физико-химические свойства (Лобышев В.И., 2007; Стехин А.А. и др, 2008), что оказывает влияние на процессы формирования, стабилизации и функционирования клеточных мембран, белков и ДНК (Аксенов С.И., 2004; Лобышев В.И., 2007). Эти данные позволяют предположить у неконтактно активированных вод (НАВ) возможность проявления генотоксической активности, что выводит на передний план гигиенических исследований

экспериментальную оценку безопасности НАВ, и – в особенности – анализ отдаленных (генотоксических) эффектов. Бесконтрольная продажа и пропаганда использования в быту приборов для электрохимической активации питьевых вод делает проблему оценки безопасности этих вод – в том числе, генотоксических эффектов – особенно актуальной.

Новизна работы.

- впервые показано, что неконтактно активированные католиты и анолиты, приготовленные на основе вод с разной минерализацией - артезианской воды, очищенной обратным осмосом, московской водопроводной воды и бутилированной питьевой воды «Пилигрим», индуцировали генотоксические эффекты в половых клетках *Drosophila melanogaster*, на клетках крови человека, культивированных в условиях цитокинетического блока и клетках костного мозга мышей *in vivo*, хотя дозовые зависимости от продолжительности активации, а также от ОВП НАВ обнаружены не были; разные воды, также как и воды из одного источника, неконтактно активированные в одинаковых условиях в разное время, могут обладать различными физико-химическими свойствами и разной биологической активностью;

- впервые продемонстрировано, что характерная для действия радиации и химических мутагенов отрицательная корреляционная связь между пролиферативной активностью и частотой клеток с цитогенетическими повреждениями (как в динамике подострого эксперимента на мышах, так и при культивировании клеток крови в реконструированных средах на НАВ, приготовленных на основе всех изученных питьевых вод), соблюдалась только для анолитов, в то время как для католитов эта связь была прямой, описанной для канцерогенов;

- впервые установлено, что католиты и анолиты, полученные неконтактной активацией одной и той же воды, индуцировали

генотоксические эффекты по принципиально различным механизмам: уровни генотоксических эффектов католитов ассоциативно связаны со светосуммой люминол-геминовой хемилюминесценции воды (СХЛ), а анолитов – со значениями ОВП и рН активированных вод;

- впервые установлено, что пролиферативная активность в лимфоцитах крови человека, культивированных в реконструированных средах на основе вод, полученных продолжительной неконтактной активацией, уменьшается с уменьшением минерализации исходных (неактивированных) вод. То есть, в процессе неконтактной активации происходит трансформация компонентов минерального состава вод с образованием соединений, которые стимулируют клетки к делению.

- в результате проведенных экспериментов обоснована необходимость гигиенической регламентации условий применения приборов для неконтактной активации воды на основании оценки потенциальной генетической опасности НАВ и разработан набор краткосрочных тестов, пригодный для ее определения.

Методическая новизна

1. Для оценки генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией, выделены наиболее информативные тест-объекты: клетки крови человека, культивированные в условиях цитокинетического блока с цитогенетическим анализом в расширенном варианте микроядерного теста, и клетки костного мозга мышей с цитогенетическим анализом в тесте на индукцию хромосомных aberrаций.

2. По результатам исследования разработан алгоритм оценки потенциальной генетической опасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией.

рекомендации по оценке генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией.

Результаты проведенных научных исследований используются ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им А.Н.Сысина» при разработке и реализации программ по гигиенической оценке безопасности активированных питьевых вод.

Степень достоверности обеспечивается тем, что:

результаты получены на сертифицированном оборудовании с использованием стандартизованных методик; теория построена на известных, проверяемых данных; идея базируется на анализе данных литературы; использованы сравнение авторских данных и данных литературы по рассматриваемой тематике; в работе использованы кондиционные животные, современные методики цитогенетического анализа и обработки исходной информации, получено большое количество экспериментальных данных и проведена их грамотная статистическая обработка.

Личный вклад соискателя

составляет не менее 80% и заключается в участии в работе на всех этапах ее проведения: подборе и анализе имеющейся литературы, выборе цели и постановке задач работы, планировании и проведении и анализе результатов экспериментов, измерении основных физико-химических показателей НАВ, статистической обработке данных, написании тезисов, статей, текста диссертации и автореферата. Часть исследований проведена совместно с сотрудниками лаборатории генетического мониторинга, лаборатории методологии оздоровительных технологий и медицины окружающей среды и лаборатории питьевого водоснабжения ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина» Минздрава России.

3. Для скрининга безопасных активированных вод адекватен микроядерный тест на клетках крови человека, культивированных в условиях цитокинетического блока, на качественном уровне дающий удовлетворительный прогноз индукции мутаций и изменения пролиферативной активности в тесте на индукцию хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей *in vivo*.

Практическая значимость полученных результатов и формы внедрения в практику:

- 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; для скрининга безопасности НАВ в качестве экспресс-метода рекомендуется тест на культуре клеток крови человека;

- при выдаче разрешительной документации на приборы для электрохимической активации питьевых вод с целью обеспечения генетической безопасности населения следует изучать потенциальные генотоксические эффекты вод, полученных на этих приборах;

- 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

Автореферат **полностью отражает основное содержание** работы.

По актуальности, новизне полученных результатов, объему, уровню выполнения диссертационная работа Зацепиной О.В. на тему «Оценка генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией», соответствует критериям п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, является научно-квалификационной работой и рекомендуется к защите на диссертационном совете Д 208.133.01 по присуждению ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.02.01 – Гигиена. Официальными оппонентами рекомендовать д.м.н., профессора, главного научного сотрудника Института водных проблем РАН Л.И.Эльпинера, ведущего научного сотрудника лаборатории фармакологии мутагенеза ГБУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова» А.К.Жанатаева.

Направить диссертационную работу Зацепиной О.В. на отзыв о научно-практической значимости в ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России

Председатель комиссии

д.м.н., профессор,



Беляева Н.Н.

Члены комиссии:

д.б.н.,

Егорова Н.А.

д.б.н.,

Хрипач Л.В.