

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Эльпинера Леонида Ицковича на диссертацию О.В.Зацепиной «Оценка генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.00.07 - Гигиена.

Актуальность рецензируемого научного исследования несомненна, поскольку оно непосредственно относится к проблеме оценки качества питьевой воды. Для современных условий формирования здоровья населения России это направление имеет существенное приоритетное значение, о чем свидетельствуют ежегодные Государственные доклады «О санитарно-эпидемиологической обстановке в РФ» и «Состоянии и охране окружающей среды в РФ».

Работа О.В.Зацепиной принадлежит к числу гигиенических исследований нового поколения, весьма успешно развиваемого в НИИЭЧиГОС - изучению качества питьевой воды в зависимости от её физико-химических характеристик. Развитие этого направления, помимо большой теоретической значимости, связано и с оценкой новых технологий водоподготовки, изменяющих физико-химические свойства питьевой воды и получающие в настоящее время распространение и в РФ и за рубежом. В тоже время, современные подходы к оценке качества питьевой воды получили существенное развитие за счет представлений о физиологической и даже патогенетической значимости её физических параметров, в частности степени и характера её структурированности.

В проблеме выявления вклада структуры воды в формирование качества по-прежнему остается много не изученного. Именно это определяет актуальность и важность углубленных исследований безопасности питьевых вод, получаемых при использовании новых технологий, в частности, процесса неконтактной электрохимической активации. Она основана на ранее неизвестном явлении направленного изменения физико-химических свойств жидкостей, отделенных от электрохимически активированной воды или раствора, диэлектрической тонкой непроницаемой для жидкости перегородкой. Идея такого разделения связана с необходимостью исключения перехода в активированную воду вредных компонентов электродов. Эффективность бесконтактного регулирования параметров воды и растворов определяется несколькими факторами, в числе которых важнейшими

являются степень метастабильности активирующего раствора или воды, материал и конструкция диэлектрической перегородки между активирующей и активируемой жидкостью.

Применяемые биметаллические устройства, в своей сущности, представляют простейшие гальванические элементы, которые при контакте с электролитом (вода, различные растворы) генерируют электрический ток и электромагнитное поле слабой интенсивности.

Рекламируемые установки для активации жидкостей, в частности и в прикладной электрохимии, предлагается использовать для обработки питьевой и минерализованной воды, физиологических и лечебных растворов, а также крови. В настоящем отзыве, естественно, мы не касаемся проблемы использования неконтактно активированной воды в терапевтических целях. Это отдельная проблема, далеко выходящая за рамки гигиены питьевой воды, требующая особого внимания исследователей фармакинетики и фармадинамики лекарственных препаратов. Тем более, что реалии и мифы, связанные с использованием, прежде всего в нетрадиционной медицине, т.н. «живой» и «мертвой воды» (отличающихся присутствием отрицательных ионов) несомненно, требуют глубокой научной проработки.

Экспериментальных исследований биологической активности электрохимически активированных питьевых вод явно недостаточно для разрешения бесконтрольного использования их населением. Это положение несомненно открывает необходимость новых подходов к оценке качества воды и к обеспечению его высоких показателей за счет целенаправленного управления ими.

Рецензируемая диссертационная работа О.В.Зацепиной посвящена изучению и оценке генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной (электрохимической) активацией, и созданию минимального набора тестов для проведения рутинных исследований активированных вод на наличие генотоксической активности. Именно так сформулирована цель этого исследования.

Существенную значимость рецензируемой работе придает тот факт, что вопрос об оценке безопасности электрохимически активированных питьевых до сих пор формально рассматривался с позиций удовлетворения требований СанПиН по бактериальному и химическому составу питьевой воды, как до, так и после

активизации. Понимание характера возможных влияний изменений физических характеристик обработанных питьевых вод на клеточном и субклеточном уровне и определило необходимость методически более тонких изысканий.

Следует положительно оценить правильность поставленных автором задач для исследования и оценки потенциальных генотоксических эффектов, вызываемых различными неконтактно активированными водами, определения существенных для обеспечения генетической безопасности физико-химических параметров этих вод и разработку методики оценки их потенциальной генотоксичности.

Научная новизна работы определяется выявлением феномена и изучения основных закономерностей влияния питьевых вод, активированных физико-химическими способами, на генетические структуры организмов, находящиеся на разных уровнях организации живого.

Наиболее важная научная новизна диссертационного исследования **О.В.Зацепиной** заключается в том, что впервые проведено систематическое изучение генотоксической активности неконтактно активированных католитов и анолитов, приготовленных на основе различных питьевых вод, выявлении возникновения генотоксических эффектов в половых клетках *Drosophila melanogaster*, в лимфоцитах крови человека, культивированных в условиях цитокинетического блока и клетках костного мозга мышей *in vivo*. Впервые, установлены принципиально различные механизмы генотоксических эффектов, вызываемых при получении из одной и той же воды католитов и анолитов путем неконтактной активации. Также впервые показано, что генотоксические эффекты неконтактно активированных вод связаны не только с условиями активации, но и с составом (минерализацией) исходной (неактивированной) воды.

Методическая новизна работы определяется разработкой набора краткосрочных тестов, пригодных для ее определения, и алгоритма оценки потенциальной генетической опасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией, а также. установлением гигиенической регламентацией условий применения приборов для неконтактной активации воды. 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.

Основным практическим выводом из работы О.В.Зацепиной является доказательство того, что питьевые воды, полученные неконтактной электрохимической активацией, не могут быть рекомендованы населению без предварительной оценки отдаленных, в частности, генетических последствий их потребления. Практическую реализацию этой рекомендации обеспечивают разработанные методы генетико-токсикологического скрининга безопасности активированных питьевых вод, которые могут быть использованы при выборе безопасных приборов и условий их получения. Методические подходы и результаты диссертационного исследования О.В.Зацепиной внедрены в практику проведения исследований ФГБУ «НИИ ЭЧиГОС им А.Н.Сысина» МЗ РФ. 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.

Достоверность материалов и обоснованность полученных результатов достигнута посредством составленной на высоком уровне программы научного исследования, четкого планирования экспериментов, использования стандартизованных современных методов исследования и инновационного подхода к анализу цитогенетических данных в микроядерном тесте *in vitro*, большим объемом корректно полученных экспериментальных данных и их адекватной статистической обработкой.

Содержание работы. Во введении изложена актуальность работы, ее цель и задачи, сформулированы научная новизна, методическая и научно-практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором обсуждены практически все имеющиеся в доступной литературе сведения о способах и приборах для активации воды и результатах немногочисленных исследований по изучению биологической активности активированных вод. Этот обзор по полноте охвата материала имеет самостоятельную ценность.

Во второй главе представлены методы проведения экспериментов и анализа полученных данных. Диссертационное исследование является многоплановым, комплексным, проведено с использованием разнообразных стандартных тестов и тест-объектов, рекомендованных к применению в России и странах ОЭСР для оценки генетической безопасности химических соединений и лекарственных препаратов (лимфоциты крови человека *in vitro*, половые клетки самцов дрозофилы *in vivo* и клетки костного мозга мышей *in vivo*). Дополнительно к стандартным рекомендациям О.В.Зацепина использовала при постановке экспериментов на культуре крови человека реконструированные среды, когда сухая стандартная среда разводится изучаемой водой. При таком подходе изучаемая вода становится основным компонентом среды для культивирования клеток, что позволяет максимально проявить ее биологическую активность.

В третьей главе приведен анализ влияния неконтактно активированных вод, приготовленных на основе осмотической воды. Основанием для включения такого типа вод в спектр экспериментов явились соображения автора о необходимости устранения возможного негативного влияния минеральных и органических компонентов воды на показатели нестабильности генома клеток крови человека *in vitro*. Приведены результаты анализа условий культивирования клеток. Показано, что пребывание клеток в средах, приготовленных на активированных католитах и анолитах, независимо от условий активации, негативно отражалось на стабильности их генетических структур, причем основным эффектом было влияние на процессы деления клеток. Дозовых зависимостей от окислительно-восстановительного потенциала (основного физико-химического показателя электрохимически активированных вод) выявлено не было.

Для оценки влияния активации воды на чувствительность генетических структур диссертант подвергала клетки крови дополнительной генотоксической нагрузке, вода в культуры стандартный мутаген (в двух дозах). Результаты этого фрагмента работы показали повышение чувствительности генома клеток крови к действию мутагенов в культурах на неконтактно активированной деминерализованной обратным осмосом воде.

Полученные данные были использованы и для выбора условий активации воды в последующих экспериментах.

Четвертая глава посвящена результатам изучения генетических эффектов неконтактно активированных вод, полученных на основе водопроводной воды – вероятно, наиболее используемой для активации в бытовых устройствах. Работа была проведена в микроядерном тесте на культуре клеток крови человека с определением чувствительности генома к действию стандартного мутагена; в тесте на индукцию аберраций хромосом в клетках костного мозга мышей *in vivo* в условиях 30-суточного подострого эксперимента при запаивании мышей *ad libitum* исследуемыми водами; забой животных производили на разных сроках экспозиции; в тесте на индукцию доминантных летальных мутаций в половых клетках самцов *Drosophila melanogaster*. Эксперименты выявили повреждающее действие изученных католитов и анолитов на генетические структуры всех использованных тест-объектов, степень выраженности этих эффектов различалась для разных вод и в разных тестах.

Пятая глава содержит материалы изучения возможность индукции генотоксических эффектов активированных вод, приготовленных на основе минеральных бутилированных вод. В качестве объекта исследований использована вода марки «Пилигрим», по составу принадлежащая к наиболее распространенным бутилированным водам. Оценка генотоксического действия проведена на тест-культуре клеток крови человека. В этом эксперименте, также как и во всех предыдущих, были выявлены множественные изменения, характеризующие эффекты нестабильности генома. Дозовых зависимостей этих эффектов от окислительно-восстановительного потенциала католитов обнаружено не было.

В шестой главе приведены результаты анализа влияния активированных вод на жизнеспособность музейного штамма *E.Coli* 1257 и *B.Sereus* из препарата Бактисубтил. Данные, полученные в многочисленных повторных экспериментах (что невозможно или очень сложно сделать в опытах на животных и культуре клеток), свидетельствуют как о нестабильности процессов активации воды, так и о нестабильности обнаруженных эффектов. Поэтому эта глава не представляется выпадающей из структуры работы.

По результатам проведенных исследований был разработан набор краткосрочных тестов для оценки потенциальной генотоксичности активированных

вод, который также можно использовать и для гигиенической оценки безопасности технологий их получения – эти данные представлены в **седьмой главе**.

Восьмая глава посвящена обсуждению результатов исследования в контексте анализа связей обнаруженных генотоксических эффектов с физико-химическими свойствами активированных вод. Содержание этой главы с очевидностью свидетельствует, что наиболее существенным научным достижением автора, а также наиболее интересным и важным прикладным аспектом исследования представляется разработка системы методов и алгоритма их применения при изучении генотоксических эффектов неконтактно активированных вод. Важно, что этот алгоритм и те же тесты могут быть использованы для оценки генетической безопасности любых приборов для получения активированной воды.

Диссертация О.В.Зацепиной соответствует **паспорту специальности 14.02.01 – Гигиена**.

Полнота представления основных результатов диссертации в научной печати. Материалы диссертации изложены в 14 научных работах, в том числе, в 3 статьях в журналах, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук», утвержденных ВАК РФ.

Автореферат диссертации и опубликованные работы полностью отражают содержание проведенного современного и актуального исследования.

Принципиальных замечаний по автореферату и диссертации нет. Тем не менее, при вполне положительной оценке работы, к её автору имеются отдельные вопросы:

1. Могут ли быть связаны выявленные генотоксические эффекты с выходом в воду при активации химических соединений из пластикового пакета, в котором проводилась активация?

2. Как диссертант рассматривает результаты выявленных генотоксических эффектов, обнаруженных в опытах с крайне мало минерализованной водой (обратноосмотической), как известно вызывающей ряд патогенетически значимых эффектов и без всякой активации?

3. Возможно ли использовать подходы, разработанные в диссертации, для оценки генетической безопасности питьевых вод, активированных другими способами?

Заключение

Диссертационная работа О.В.Зацепиной «Оценка генетической безопасности питьевых вод, полученных неконтактной электрохимической активацией», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является самостоятельным и законченным научным исследованием. Все научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в ней, обоснованы адекватностью методов и средств, выбранных для достижения поставленных задач. По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов научное исследование Зацепиной Ольги Валерьевны, выполненное по актуальному направлению гигиены, отвечает требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 года, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а автор достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 14.02.01 – Гигиена.

Официальный оппонент
главный научный сотрудник Института
водных проблем РАН
Заслуженный деятель науки РФ
доктор медицинских наук, профессор



Эльпинер Леонид Ицкович

Адрес: 119333, г. Москва, ул. Губкина, д. 3
Телефон: +7 (499) 135-73-80 E-mail: elpiner@rambler.ru

Подпись доктора медицинских наук, профессора,
главного научного сотрудника Института
водных проблем РАН Эльпинера Леонида Ицковича
заверяю

Ученый секретарь
Института водных проблем РАН
Кандидат технических наук



Степанова Марианна Исааковна

« _____ »

2015