



РЕЦЕНЗИЯ

По процедура за защита на дисертационен труд за придобиване ОНС „доктор” по научната специалност Хигиена /вкл. трудова, комунална, училищна, радиационна и др./, професионално направление 7.1. Медицина, област на висшето образование 7.3 здравеопазване и спорт към катедра „Хигиена, инфекциозни болести и епидемиология” на МФ, Тракийски университет – Стара Загора

Рецензент: проф. д-р Емил Влайков Воденичаров, дм – Ръководител катедра „Хигиена” при МФ-МУ-София, назначен за член на Научно жури със Заповед на Ректора на МФ-Стара Загора №320/07.02.20 г.

Рецензирането на материалите, представени за конкурса се основава на изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение, както и на правилника за условията и реда за защита на дисертационен труд за придобиване на ОНС „доктор”.

Тема: „Проучване нивата на тежки метали в околната среда при експонирано население в регион с повишен риск от замърсяване”

Автор: д-р Павлина Любомирова Гидикова-Гешева – асистент в Катедра „Хигиена, епидемиология и инфекциозни болести” в Медицински факултет на Тракийски университет, докторант в самостоятелна форма на обучение

Научен ръководител: доц. д-р Росица Делирадева, дм

Научен консултант: проф. д-р Господинка Пракова, дм

Биографична справка:

Д-р Гидикова е родена на 18.XII.1963 г. в гр. Стара Загора. Завършва с отличие математическа гимназия „Гео Милев”. През 1989 г. се дипломира със специалност медицина във Висшия медицински институт в Стара Загора. През 1994 г. получава магистърска степен по Мониторинг и опазване на околната среда и здраве / European Masters Degree in Environmental Monitoring, control and Health/ , като печели наградата за най-добър проект и стипендия за специализация в Свободен университет в Брюксел. През 1998 г. придобива специалност по трудова медицина. От 07.03.1990 г. д-р Гидикова работи като асистент по хигиена в Медицински факултет на Тракийски университет. От 01.04.1998 г. е старши асистент, а от 01.11.2005 г.- 31.12.2014 г. е главен асистент.

Д-р Гидикова обучава студенти по медицина, медицински сестри и акушерки, студенти по управление на здравните грижи, рехабилитатори и ерготерапевти, лекарски асистенти в МФ, както и медицински лаборанти в Медицински колеж на Тракийския университет.

През 2014 г. д-р Гидикова е зачислена в Катедра „Хигиена, епидемиология и инфекциозни болести“ като докторант в самостоятелна форма на обучение, а през 2017 г. е отчислена с право на защита.

Дисертационния труд е насочен към проучване на замърсяването на околната среда с тежки метали в района на град Стара Загора и експозицията на възрастни хора от населени места с повишен риск. В научната разработка е направен анализ на данни от провеждания от държавата и общината мониторинг на замърсяването с тежки метали на атмосферен въздух почва, подпочвени и питейни води, растителни и животински продукти отглеждани в региона. Определени са населени места с повишен риск и най-значимите за експозиция на населението от региона тежки метали. За пръв път са изследвани биомаркери за експозиция и ефект при население от региона непрофесионално експонирано на олово, кадмий и никел. Доказана е необходимостта от изследване на биомаркери за експозиция на тежки метали при групи от населението с повишена чувствителност.

Дисертацията е представена на 188 страници и съдържа всички раздели, определени от чл.45(2) от Правилника за развитието на академичния състав в Тракийски университет: главна страница, съдържание, въведение, литературен обзор, материал и методи, резултати и обсъждане, изводи, научно-приложни приноси и библиография. В дисертацията са използвани общо 24 таблици и 20 фигури и са цитирани 411 литературни източника.

Въведението (3 стр.) представя обща характеристика на тежките метали и актуалността на проучвания проблем за региона.

Литературният обзор обхваща 59 страници. В общата част са разгледани източниците на замърсяване на околната среда с тежки метали, пътищата и начините за експониране на човека. За всеки от проучваните метали е направен литературен обзор относно постъпването и разпространението му в околната среда, биокумуляцията, преминаването по хранителната верига, токсикокинетиката и токсикодинамиката в човешкия организъм и вредните ефекти. Литературният обзор завършва с изводи и обобщения, които насочват към целта и задачите на проучването.

Целта на проучването е да се определят нивата на тежки метали в околната среда и при експонирано население от регион с повишен риск от замърсяване в област Стара Загора. Поставени са следните задачи: анализ на данни за замърсяване на околната среда в региона на град Стара Загора с тежки метали за седемгодишен период; проучване съдържанието на тежки метали в растителни и животински храни отглеждани в региона; изследване на биомаркери за експозиция на олово, кадмий и

никел (концентрации в кръв) при възрастни хора от села с повишен риск и сравняване с контролна група и с препоръчителните максимални стойности; изследване на биомаркери за ефект при експонираната група.

В раздел Материал и методи (15 стр.) са описани източниците на данни за съдържанието на тежки метали в атмосферен въздух, почви, подпочвени и питейни води, стандартизираните методи използвани за изследването им, както и нормите за сравнение регламентирани в съответните нормативни документи. Изборът на селата за провеждане на проучването и тежките метали, които са изследвани, е направен въз основа на най-голямата честота на измерени наднормени и гранични концентрации в растения. Чрез атомно-абсорбционна спектметрия е изследвано съдържанието на олово, кадмий и никел в общо 95 проби от растителни и животински храни, отглеждани в личните градини и стопанства на живеещи в селата Змейово и Борилово, като са подбрани продукти с най-голяма склонност към биокумуляция на тежки метали и със сравнително висока консумация от населението. Изследвано е съдържанието на металите в цяла кръв при 17 жители от всяко от селата и при 16 от екологично чисто населено място (по равен брой мъже и жени в групите). За избягване на обърквачи фактори всички участници са непущачи, професионално неекспонирани на тежки метали, живеещи над 10 години в съответните села и на пенсионна възраст. Допълнително е изследвано и съдържанието на цинк с цел да се определи зависимостта на експозицията му в комбинация с другите метали. Изследванията са извършени в Научно-изследователската лаборатория към Аграрен факултет на Тракийски университет, като методиките използвани за всеки метал са валидизирани и контролирани. За статистическа обработка на резултатите е използван непараметричен анализ поради голямата вариабилност на измерените концентрации, което не е необичайно за микроелементите. Потърсени са корелационни зависимости между нивата на трите метала в кръв. Изчислен е и относителният риск за повишени нива на олово, кадмий и никел и за недоимък на цинк при комбинирана експозиция. При експонираната група са изследвани биомаркери за нарушена бъбречна функция в резултат на продължителната комбинирана експозиция на трите метала - β 2-микроглобулин и N-ацетил- β -D-глюкозаминидаза (β -NAG) в урината, креатинин и пикочна киселина в кръв. За откриване на хематологични увреждания в резултат от въздействието на олово са изследвани кръвна картина, морфология на еритроцитите, ретикулоцити и наличие на базифилно пунктирани еритроцити.

Раздел Резултати и обсъждане (75 стр.) е структуриран в четири части, в които са представени и анализирани получените резултати при изпълнението на поставените в проучването задачи. Направени са сравнения с резултати от други проучвания, разсъждения, интерпретации и обобщения. Разделът завършва с изводи и заключения.

Анализът на данни от мониторинга на тежки метали в атмосферен въздух, почви, подпочвени и питейни води в община Стара Загора не показва наличие на наднормени концентрации и динамични промени за седемгодишен период (2011 – 2017 г.). Измерените концентрациите на олово, кадмий и никел са съизмерими с наблюдаваните области на България и Европа, които не са в непосредствена близост до локални източници на замърсяване.

Резултатите от изследването на тежки метали в растения проведено от Община Стара Загора (2005, 2007 и 2008 г.) показва най-голяма честота на наднормени концентрации на олово, кадмий и никел в селата Змейово и Борилово. Това определя измерването на концентрациите на тези метали в растителни и животински продукти отглеждани в двете села. Почти всички концентрации в растителните храни са под съответните максимално допустими. Най-високи концентрации са установени в листните зеленчуци, следвани от зърнените храни и сухите варива, което съответства на данните от литературния обзор. Много близки до максимално допустимите са измерените в гроздето концентрации, а във всички проби от домашно приготвени вина съдържанието на олово надвишава актуализираната през 2015 година норма. Проучването на съдържанието на тежки метали в храни от животни отглеждани в региона показва най-високи концентрации на олово в мляко и на кадмий във вътрешности употребявани като храна. Най-голям риск от кумулиране на металите е установен при животните хранени на свободна паша и дохранвани с местно отглеждани фуражи. Направеният непараметричен корелационен анализ на Spearman е показал статистически значима положителна корелационна връзка между нивата на олово, кадмий и никел както в растителните, така и в животинските храни, което показва комбинираното им кумулиране от антропогенно замърсените въздух и почви в региона.

Изследването на съдържанието на тежки метали в кръв, като биомаркер за експозиция, показва значимо по-висок риск от комбинирана експозиция на олово и кадмий при възрастните хора от селата Змейово и Борилово в сравнение с контролната група. Чрез непараметричен Mann-Whitney U-test са установени статистически значимо по-високи нива на металите в експонираните групи. Намерена е статистически значима положителна корелация между концентрациите на олово и кадмий, което показва

комбинирана експозиция на двата метала. При експонираната група е установена статистически значима отрицателна корелационна връзка между нивата на олово, кадмий и никел в кръв и нивото на цинка. Това показва повишен риск от цинков дефицит при комбинирана експозиция на тези метали и потвърждава описаната в литературата конкуренция при абсорбцията, транспорта, ретенцията и функцията им в човешкия организъм.

Изследваните при експонираната група биомаркери за ефект показват прояви на нарушена бъбречна функция при част от експонираните лица, което може да се дължи на нефротоксичния ефект характерен и за трите метала. Установена е по-голяма честота на наднормени нива на N-ацетил- β -D-глюкозаминидазаотколкото на β 2-микроглобулин, което е определя като по-чувствителен маркер за наличие на проксимална тубулна дисфункция. Не са установени достатъчно убедителни отклонения в кръвната картина доказващи хемотоксичния ефект на оловото.

Въз основа на установения при възрастните хора повишен риск от експозиция на олово и кадмий е обоснована необходимостта от проучвания и при други групи с повишена чувствителност, каквито са малките деца и бременните жени.

Имайки в предвид тератогенното действие на кадмия засягащ таргентен орган-простатата при мъжете би било добре авторката при кръвните изследвания на мъжки контингент от с. Змейово и Борилово да е направила изследване на PSA общ и специфичен за риск от карцином на простатата.

Въпреки тази забележка научно-приложните приноси на дисертационния труд са няколко. Направен е анализ на замърсяването с тежки метали за седемгодишен период във всички основни компоненти на околната среда в община Стара Загора, свързани с експозицията на населението – въздух, почви, подпочвени и питейни води. Изследвано е съдържанието на олово, кадмий и никел в растителни и животински продукти отглеждани в населени места с повишен риск. Чрез проучване на биомаркери за експозиция е доказан повишеният здравен риск за възрастното население от региона от комбинирана експозиция на олово и кадмий. Потвърдена е причинно-следствената връзка между експозицията на тежки метали и недоимъка на цинк. Изследвани са паралелно два биомаркера в урина за тубулна дисфункция при експозиция на тежки метали и е установено, че N-ацетил- β -D-глюкозаминидаза е по-чувствителен маркер от β 2-микроглобулин. Обоснована е необходимостта от изследване на биомаркери за експозиция на тежки метали при уязвими групи от населението в региона на град Стара Загора.

Научно-изследователската дейност на д-р Гидикова е насочена към проучване факторите на околната среда и условията на труд и въздействието им върху здравето и работоспособността на човека. Докторантката има 56 публикации /28 на български, 26 на английски, 1 на френски и 1 на руски език/ в научни списания и сборници, от които 7 са с импакт фактор и/или импакт ранг. Нейни публикации са цитирани в 60 научни статии, от които 34 са в списания с IF и/или SJR. Д-р Гидикова е участвала с 28 научни проучвания на конференции и конгреси в България и с 10 в чужбина. Съавтор е в написването на 2 наръчника и 1 учебник. Участвала е в реализацията на 10 научно-изследователски проекта.

Приложен е списък на 4 свързани с дисертацията публикации в научни списания, едно от които индексирано в Scopus /SJR₂₀₁₈=0.31/.

Изхождайки от гореизложеното от мен, разработката има своите качества дисертантката да придобие ОНС „Доктор”.

18.02.2020 г.

Изготвил 
/проф.д-р Емил Влайков Воденичаров,дм/

REVIEW

In accordance with procedure for the defense of dissertation for awarding of PhD degree in the doctoral programme Hygiene (occupational, communal, school, radiation, etc), professional field 7.1. Medicine, field of higher education 7. Health and Sports at the Department “Hygiene, infectious diseases, and epidemiology”, Medical Faculty, Trakia Univesity, Stara Zagora

Reviewer: Prof. Emil Vlaykov Vodenicharov, MD, PhD – Head of Department “Hygiene” at Medical Faculty, Medical University, Sofia, appointed a member of the Scientific Jury with Order No 320/07.02.2020 by the Rector of Trakia University, Stara Zagora.

The review of the materials submitted is based on the requirements of the Law on Academic Staff Growth of the Republic of Bulgaria, the Rules for its implementation, as well as the Regulations for the Terms and Procedures for Dissertation Defense and Acquisition of Doctoral Degree.

Topic: „Research on heavy metals levels in the environment and in exposed population in a region with increased risk of pollution”

Author: Pavlina Lyubomirova Gidikova-Gesheva, MD – Assist. Prof. at the Department of Hygiene, Epidemiology, and Infectious Diseases, Medical Faculty, Trakia University, and doctoral student in independent form of training

Scientific supervisor: Assoc. prof. Rositsa Deliradeva, MD, PhD

Scientific consultant: Prof. Gospodinka Prakova, MD, PhD

Biographical Data:

Dr. Gidikova was born on December 18, 1963 in Stara Zagora. She graduated with honors from Geo Milev High School of Mathematics. In 1989 she graduated with a degree in medicine from the Higher Medical Institute in Stara Zagora. In 1994 she received a European Masters Degree in Environmental Monitoring, Control and Health by winning the Best Project Award and specialization fellowship at the Free University of Brussels. In 1998 she acquired a specialty in occupational medicine. Since March 7, 1990, Dr. Gidikova has been working as an assistant professor in hygiene at the Faculty of Medicine, Trakia University. She became a Senior Assist. Prof. on 01.04.1998, and from 01.11.2005 to 31.12.2014 - Head Assist. Prof.

Dr. Gidikova teaches practical classes for medical students, nurses and midwives, for health care management students, rehabilitators and ergotherapists, and medical assistants at the Medical Faculty, as well as medical laboratory technicians at the Medical College, Thrakia University.

In 2014, Dr. Gidikova was enrolled in the Department of Hygiene, Epidemiology and Infectious Diseases as a PhD student in independent form of training. In 2017 she finished her training with a right to proceed to dissertation defense.

The dissertation is focused on the study of environmental heavy metal pollution in the region of Stara Zagora and the exposure of elderly people from high-risk settlements. The scientific work analyzes data from state and regional monitoring of heavy metal pollution of atmospheric air, soil, groundwater and drinking water, as well as plant and animal products grown in the region. High-risk settlements and the most significant heavy metal exposure for the population of the region have been identified. For the first time, biomarkers for exposure and effect were studied for non-professionally exposed to lead, cadmium and nickel population in the region. The need to study biomarkers for heavy metal exposure in highly sensitive populations has been demonstrated.

The dissertation is presented on 188 pages and contains all sections defined by Art. 45 (2) of the Rules for Academic Staff Growth of Trakia University: Main Page, Contents, Introduction, Literature Review, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Scientific Contributions and Bibliography. A total of 24 tables and 20 figures were used in the dissertation and 413 references were cited.

The introduction (3 pages) presents a general description of heavy metals and the regional relevance of the studied problem.

The literature review covers 59 pages. The sources of environmental pollution with heavy metals, routes and types of human exposure are examined in the general part. For each of the metals studied, a literature review has been compiled regarding its entry and distribution into the environment, bioaccumulation, passage along the food chain, toxicokinetics and toxicodynamics in the human body and its harmful effects. The literature review ends with conclusions and summaries that point towards purpose and objectives of the study.

The purpose of the study is to determine levels of heavy metals in the environment and in the exposed population from a region with higher pollution risk in the municipality of Stara Zagora. The following tasks have been set: analysis of data on environmental pollution with heavy metals in the region of Stara Zagora over a seven-year period; study of heavy metal content in plant and animal foods grown in the region; study of biomarkers of exposure for lead, cadmium and nickel (blood concentrations) in elderly people from at-risk villages and comparison with a control group and the recommended maximum values; study of biomarkers of effect in the exposed group.

The Materials and Methods section (15 pages) describes the sources of data on the heavy metal levels in atmospheric air, soils, groundwater and drinking water, the standardized methods used for their study, as well as the comparison standards set out in the relevant regulatory documents. The selection of locations (villages) for the study and the appropriate heavy metals was made on the basis of the highest frequency of measured excessive and near limit concentrations in plants. The content of lead, cadmium and nickel in a total of 95 samples of plant and animal food grown in private gardens and farms of located in Zmeyovo and Borilovo was investigated by atomic absorption spectrometry in selected products with the highest

tendency for heavy metal bioaccumulation and relatively high consumption by the population. The blood heavy metal content of whole blood was studied in 17 inhabitants from each studied village and in 16 controls living in a clean area (equal number of men and women in all groups). To avoid confounding factors, all participants were non-smokers, non-professionally exposed to heavy metals, living over 10 years in the respective villages and at retirement age. Additionally, blood zinc content was investigated to determine the correlation of its exposure in combination with other metals. The investigations were carried out at the Research Laboratory of the Faculty of Agriculture, Trakia University, and the methodologies used for each metal were validated and controlled. Non-parametric analysis was used for statistical processing of the results due to the large variability of measured concentrations, which is not unusual for trace elements. Correlation relationships between the blood levels of the three metals were sought. The relative risk of elevated concentrations of lead, cadmium and nickel and of zinc deficiency in combined exposure were also calculated. In the exposed group, biomarkers for impaired renal function as a result of prolonged combined exposure of the three metals were investigated - β 2-microglobulin and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (β -NAG) in urine, creatinine and uric acid in blood. For detection of hematologic disorders as a result of the adverse effects of lead, complete blood count, erythrocyte morphology, reticulocytes, and the presence of basophilic stippling of erythrocytes were examined.

The Results and Discussion section (75 pages) is structured into four sections, which present and analyze the results obtained after performing the tasks set out in the study. Comparisons have been made with results from other studies, as well as reflections, interpretations and summaries. The section ends with conclusions and implications.

Data analysis from the heavy metal monitoring of atmospheric air, soil, groundwater and drinking water in the municipality of Stara Zagora did not show excessive concentrations and dynamic changes over a seven-year period (2011 - 2017). The measured concentrations of lead, cadmium and nickel were in accordance with those observed in areas of Bulgaria and Europe that are not in close proximity to local pollution sources. The results of heavy metal survey in plants conducted by Stara Zagora Municipality (2005, 2007 and 2008) showed the highest incidence of excessive concentrations of lead, cadmium and nickel in the villages Zmeyovo and Borilovo. This determined the measurement of the aforementioned metals in plant and animal products grown in both villages. Almost all concentrations in plant foods were below the relevant maximum levels. The highest concentrations were found in leafy greens, followed by cereals and dry pulses, which was consistent with the literature data. Concentrations measured in grapes were very close to the maximum levels, and in all samples of home-made wines the lead content exceeded the standard set in 2015. A study on the heavy metal content of foods of animal origin from the region showed the highest concentrations of lead in milk and cadmium in offal used as food. The greatest risk of accumulation was found in free grazing animals supplemented with locally grown feed. The Spearman nonparametric correlation analysis showed a statistically significant positive correlation between lead, cadmium and nickel levels in both plant and animal foods, proving their combined accumulation from the anthropogenically polluted air and soil in the region.

Research on heavy metal levels in blood as biomarkers of exposure showed a significantly higher risk of combined exposure to lead and cadmium in the elderly from Zmeyovo and Borilovo compared to the control group. Non-parametric Mann-Whitney U-test revealed significantly higher levels of metals in the exposed groups. A statistically significant positive correlation was found between lead and cadmium concentrations, indicating a combined exposure to both metals. In the exposed group were also found significant negative correlations between lead, cadmium and nickel levels and zinc levels in blood. This indicates an increased risk of zinc deficiency from combined exposure to these metals and confirms the competition for absorption, transport, retention and function in the human body, described in the literature.

The biomarkers studied in the exposed group showed manifestations of impaired renal function in some of the subjects, which may be due to the nephrotoxic effect characteristic for all three metals. A higher incidence of abnormal N-acetyl- β -D-glucosaminidase levels than of β 2-microglobulin was found, therefore the former was identified as a more sensitive marker of proximal tubular dysfunction. There were no sufficiently convincing deviations in the blood markers demonstrating the hemotoxic effect of lead.

Based on the increased risk of lead and cadmium exposure found in the elderly, the need for studies in other sensitive groups, such as young children and pregnant women, is justified.

Given the carcinogenic effect of cadmium affecting the target organ prostate in men, it would have been beneficial for the author to have studied PSA, the general and specific prostate cancer risk in male residents of Zmeyovo and Borilovo.

Despite this remark, the scientific contributions of the dissertation are several. Analysis of heavy metal pollution over a seven-year period in all major environmental components - air, soil, groundwater and drinking water - related to the exposure of the population in the municipality of Stara Zagora has been performed. The content of lead, cadmium and nickel in plant and animal products grown in high-risk areas has been investigated. A study of biomarkers of exposure has demonstrated the increased health risk for the adult population in the region from combined exposure to lead and cadmium. The causal link between heavy metal exposure and zinc deficiency has been confirmed. Two biomarkers were investigated in urine for tubular dysfunction caused by heavy metal exposure, and N-acetyl- β -D-glucosaminidase was found to be a more sensitive marker than β 2-microglobulin. The necessity to study biomarkers of exposure to heavy metals in vulnerable population groups in Stara Zagora region is justified.

Dr. Gidikova's research activity is focused on the study of environmental factors and working conditions and their impact on human health and work ability. Dr. Gidikova has produced a total of 56 publications (28 in Bulgarian, 26 in English, 1 in French and 1 in Russian) in scientific journals and conference proceedings, 7 of which have Impact Factor and/or Impact Rank. Her publications have been cited in 60 scientific articles, 34 of which are in IF and/or SJR listed journals.

Dr. Gidikova has participated in 28 scientific conferences or congresses in Bulgaria and 10 abroad. She is the co-author of two manuals and one textbook. She has been a team member in 10 research projects.

Among the reviewed documents is a list of four dissertation-related publications in scientific journals, one of which is indexed in Scopus (SJR₂₀₁₈=0.31).

Based on the evidences above the dissertation work possesses the needed qualities, and the doctoral student should acquire the PhD degree.

18.02.2020

Reviewer:



/ Prof. Emil Vlaykov Vodenicharov, MD, PhD /